GRECU I. NEAMȚU MARIA ENESCU L.

implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice

C 4260

Junimea

GRECU I.

NEAMȚU MARIA

ENESCU L.

IMPLICAȚII BIOLOGICE ȘI MEDICALE ALE CHIMIEI ANORGANICE

171231
B.C.U. - IASI

EDITURA JUNIMEA

IAȘI ● 1982

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

15.138
II - 4260

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

	Pag.
Introducere	9
1. CHIMIA COORDINATIVA A IONILOR METALELOR TRANZIȚIONALE	11
1.1. Metale tranziționale	11
1.2. Combinații complexe ale metalelor tranziționale	12
1.3. Stabilitatea combinațiilor complexe	13
1.4. Liganzi biologici	17
1.5. Complecși ai polinucleotidelor și ai acizilor nucleici	35
Bibliografie	47
2. ELEMENTELE CHIMICE ȘI ORGANISMELE VII	48
2.1. Generalități	48
Bibliografie	54
3. ELEMENTE ESENȚIALE ȘI MICROELEMENTE ÎN SISTEME BIOLOGICE	55
3.1. Generalități	55
3.1.1. Modul de acțiune al microelementelor	58
3.1.2. Necesități și toleranță	59
3.1.3. Boli și dereglări element-dependente	61
Bibliografie	64
3.2. *Metalele alcaline și transportul lor prin membrane*	64
3.2.1. Generalități	64
3.2.2. Agenți ionofori	66
Bibliografie	76
3.3. *Metalele alcalino-pământoase*	77
3.3.1. Generalități	77
3.3.2. Calciul	77
3.3.3. Magneziul	80
Bibliografie	86
3.4. *Fierul*	86
3.4.1. Generalități	86
3.4.2. Metabolism	88
3.4.3. Surse de fier	95
3.4.4. Hemoglobina	96
3.4.5. Transferina	98
3.4.6. Feritina	100
Bibliografie	101
3.5. *Cuprul*	101
3.5.1. Generalități, distribuție	101
3.5.2. Metabolism	105

BCU CLUJ UNIVERSITY LIBRARY

3.5.3. Carență și acțiune farmacologică 106
3.5.4. Surse de cupru 109
3.5.5. Toxicitate 110
Bibliografie 110
3.6. *Cobaltul* 110
3.6.1. Generalități, distribuție 110
3.6.2. Metabolism 111
3.6.3. Carență și necesarul de cobalt și vitamină B_{12} 112
3.6.4. Cobaltul în alimentația omului 113
Bibliografie 114
3.7. *Zincul* 115
3.7.1. Generalități, distribuție 115
3.7.2. Metabolism 117
3.7.3. Carență și acțiune farmacologică 119
3.7.4. Toxicitate 122
Bibliografie 123
3.8. *Manganul* 123
3.8.1. Generalități, distribuție 123
3.8.2. Metabolism 125
3.8.3. Carență și acțiune farmacologică 126
3.8.4. Surse de mangan 128
3.8.5. Toxicitate 128
Bibliografie 129
3.9. *Molibdenul* 129
3.9.1. Generalități, distribuție 129
3.9.2. Metabolism 131
3.9.3. Molibdenul și alimentația umană 132
3.9.4. Toxicitate 133
Bibliografie 134
3.10. *Cromul* 135
3.10.1. Generalități 135
3.10.2. Metabolism 136
3.10.3. Carență și acțiune farmacologică 137
3.10.4. Influența cromului asupra creșterii și longevității 138
3.10.5. Surse de crom și toxicitate 139
Bibliografie 140
3.11. *Vanadiul* 140
3.11.1. Generalități 140
3.11.2. Distribuție și metabolism 140
3.11.3. Acțiune farmacologică, toxicitate 141
3.11.4. Toxicitate 142
Bibliografie 143
3.12. *Staniul* 143
3.12.1. Generalități 143
Bibliografie 144
3.13. *Nichelul* 144
3.13.1. Generalități 144
3.13.2. Metabolism 144
3.13.3. Carență și acțiune farmacologică 145
3.13.4. Toxicitate 146
Bibliografie 146

3.14. *Seleniul* 146
3.14.1. Generalităţi 146
3.14.2. Metabolism 147
3.14.3. Acţiune farmacologică 149
3.14.4. Surse şi necesităţi 151
3.14.5. Toxicitate (selenoza) 153
Bibliografie 154
3.15. *Fluorul* 155
3.15.1. Generalităţi 155
3.15.2. Surse de fluor 155
3.15.3. Metabolismul fluorului 156
3.15.4. Carenţa şi funcţiile fluorului 158
3.15.5. Toxicitate 161
Bibliografie 162
3.16. *Iodul* 162
3.16.1. Generalităţi, distribuţie 162
3.16.2. Metabolism 164
3.16.3. Acţiune fiziologică, toxicitate 165
3.16.4. Necesarul în iod şi surse de iod 166
Bibliografie 167
3.17. *Siliciul* 167
3.17.1. Generalităţi, distribuţie 167
3.17.2. Metabolism 168
3.17.3. Carenţă şi acţiune farmacologică 169
3.17.4. Urolitiaza silicică 171
Bibliografie 171
3.18. *Alte elemente* 171
3.18.1. Aluminiul 171
3.18.2. Arsenul 172
3.18.3. Bariul 174
3.18.4. Stronţiul 174
3.18.5. Borul 175
3.18.6. Bromul 175
3.18.7. Germaniul 176
Bibliografie 176
4. POLUANŢI METALICI MAJORI 177
4.1. *Mercurul* 177
4.1.1. Generalităţi, distribuţie 177
4.1.2. Metabolism 182
Bibliografie 183
4.2. *Cadmiul* 183
4.2.1. Generalităţi, distribuţie 183
4.2.2. Metabolism şi interacţiuni cu zinc şi alte elemente 184
4.2.3. Cadmiul şi hipertensiunea 187
4.2.4. Cadmiul şi reproducerea 187
4.2.5. Toxicitatea 188
Bibliografie 189
4.3. *Plumbul* 189
4.3.1. Generalităţi, distribuţie 189
4.3.2. Metabolism 191

BCU CENTRALA UNIVERSITARA LIBRARY

4.3.3. Toxicitate 192
Bibliografie 193

5. METALOENZIME 194
5.1. Generalități 194
5.2. Rolul ionilor metalici în sistemele metalo-proteine 196
5.3. Scheme de coordinare ale enzimelor, metalelor și substraturilor 200
5.3.1. Complecși de tipul Me—E—S cu enzima în punte 205
5.3.2. Complecși de tipul E—S—Me cu substratul în punte 205
5.3.3. Complecși de tipul E—Me—S și E $\begin{matrix} Me \\ | \\ S \end{matrix}$ cu ionul metalic în puncte 209
Bibliografie 213

6. TRANSPORTUL OXIGENULUI 214
6.1. Generalități 214
6.2. Modele de compuși pentru fixarea oxigenului molecular 216
6.3. Transportul natural al oxigenului 220
Bibliografie 222

7. FIXAREA AZOTULUI ÎN SISTEME BIOLOGICE 223
7.1. Generalități 223
7.2. Fixarea chimică și neenzimatică a azotului 224
7.3. Fixarea biologică a azotului 228
Bibliografie 234

8. MICROELEMENTELE ȘI BOLILE CARDIOVASCULARE 235
8.1. Generalități 235
Bibliografie 240

9. METALE, LIGANZI, COMBINAȚII COMPLEXE ȘI BOALA CANCEROASĂ 241
9.1. Metale 241
9.2. Liganzi cancerigeni 245
9.3. Liganzi anticancerigeni 246
9.4. Chelați metalici cu acțiune carcinostatică și antivirală 248
9.5. Combinații coordinative cu activitate antitumorală 251
9.5.1. Complecșii Pt(II) 251
9.5.2. Complecși ai altor metale tranziționale 260
Bibliografie 261

10. LIGANZI, COMBINAȚII COMPLEXE ȘI CHELATE ÎN BIOLOGIE ȘI MEDICINA 262
10.1. Generalități 262
10.2. Utilizarea liganzilor și a agenților de chelatare în tratamentul intoxicațiilor cu ioni metalici 263
10.3. Utilizarea unor chelați metalici în intoxicațiile cu acid cianhidric și cianuri 280
10.4. Introducerea în organism a unor bioioni deficitari 281
10.5. Utilizarea liganzilor, a combinațiilor complexe și chelate în scopul privării bacteriilor, virusurilor sau a unor sisteme microbiene de microelementele esențiale activității lor sau furnizării de metale toxice agenților patogeni 282
Bibliografie 288
Biologic and medical implications of anorganic chemistry (summary) . . 299

BUCUREȘTI CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

INTRODUCERE

În ultimii ani, proprietățile și rolul biologic al ionilor metalici a început să fie reconsiderat, ținînd seama de importanța lor în funcțiile vitale ale organismelor vii, în care intervin, mai ales, sub formă de combinații complexe și chelate. Menționăm astfel rolul complecșilor chelați naturali de tipul porfirinelor (clorofila, hemoglobina, vitamina B_{12}) în captarea energiei solare și a fotosintezei, fixarea și transportul oxigenului și azotului, coordonarea întregului metabolism și elaborarea controlată a energiei în sistemele biologice care se desfășoară prin intermediul enzimelor, multe dintre ele, metaloenzime sau enzime metal induse, cît și explicarea acțiunii farmacologice ale unor substanțe medicamentoase pe baza proprietăților lor complexoformatoare.

Progresele recente ale chimiei anorganice și element-organice privind legătura, structura și reactivitatea combinațiilor coordinative, alături de rolul din ce în ce mai mare acordat bioionilor anorganici în explicarea unui număr tot mai mare de procese biologice, — excesul sau lipsa lor punînd în pericol însăși viața —, au lărgit considerabil domeniul de aplicare al chimiei anorganice în științele biomedicale și a dus la apariția *chimiei bioanorganice*, nouă ramură a chimiei coordinative a organismelor vii, adică a biochimiei.

Domeniul chimiei bioanorganice, neglijat multă vreme, cunoaște astăzi o dezvoltare rapidă avînd în vedere atît rolul vital al bioionilor în procesele fundamentale ale organismelor vii, — perturbarea echilibrului lor funcțional fiind însoțit de apariția multor maladii la oameni, animale și plante —, precum și implicațiile interacțiunilor poluanților cu sistemele chimice in vivo.

Ținînd seama de conexiunea strînsă între „chimia ionilor metalici", asociați in vivo în cea mai mare parte cu proteinele și rolul lor pentru viață, în elucidarea proceselor biologice dependente de ei, chimia bioanorganică utilizează larg achizițiile actuale ale chimiei coordinative și pe cele ale celorlalte ramuri ale chimiei, biochimiei, medicinii și ale fizicii. Dealtfel „barierele istorice" între sferele independente ale chimiei, biochimiei, biologiei, medicinii și ale fizicii nu-și mai au această justificare-

Apariția pe plan mondial, în ultimii ani, a unor monografii de Bioinorganic chemistry (Inorganic Biochemistry), și a revistei Journal of Inorganic Biochemistry, precum și tendințele mereu crescînde de aplicare a cunoștințelor și achizițiilor actuale din domeniul nutriției, fiziologiei, biochimiei și patologiei oligoelementelor, nu numai la animale, dar și la oameni, ne-a determinat să elaborăm monografia „Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice".

Lucrarea caută să elucideze, pe baza datelor actuale, implicațiile chimiei coordinative în explicarea rolului ionilor metalici și al liganzilor medicamentoși în sisteme biologice, procese fiziologice și fiziopatologice.

Lucrarea se adresează deopotrivă medicilor, farmaciștilor, biologilor, chimiștilor și studenților în medicină, farmacie, biologie și chimie, ca prim punct de orientare și documentare în acest domeniu de actualitate al științelor biologice și medicale.

Autorii vor fi recunoscători persoanelor care vor aduce cărții sugestii sau observații critice constructive și exprimă calde mulțumiri editurii Junimea din Iași.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1

CHIMIA COORDINATIVĂ A IONILOR METALELOR TRANZIȚIONALE

1.1. Metale tranziționale

Elementele ale căror atomi au orbitale atomice, OA, *d* și *f* parțial ocupate cu electroni, în stările de oxidare obișnuite, sînt elemente tranziționale și au caracter metalic. În funcție de configurația lor electronică metalele tranziționale sînt de tipul *d* și de tipul *f*. Primele au configurația electronică $(n-1)d^y ns^x$, unde x are de obicei valoarea 2, dar poate fi și unu sau chiar zero, iar y poate avea valori de la 1—10. Se cunosc patru serii de metale tranziționale de tip *d*, așezate în sistemul periodic în perioadele 4, 5, 6 și 7 începînd cu un element din subgrupa III b și terminînd cu elementul din subgrupa II-b (tabelul 1).

Tabelul 1

Metale tranziționale de tip d și configurația lor electronică.

O.A.	Număr de electroni									
	IIIb	IVb	Vb	VIb	VIIb	VIIIb	IXb	Xb	Ib	IIb
3d	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
4s	1 2	2 2	3 2	5 1	5 2	6 2	7 2	8 2	10 1	10 2
4d	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd
5s	1 2	2 2	4 1	5 1	6 1	7 1	8 1	10 0	10 1	10 2
5d	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg
6s	1 2	2 2	3 2	4 2	5 2	6 2	7 2	9 1	10 1	10 2
6d	Ac	(104)								
7s	1 2	2 2								

În prima serie, $_{21}Sc - _{30}Zn$, este în curs de completare cu electroni OA din substratul 3*d*, în cea de a doua, $_{39}Y - _{48}Cd$, cele din substratul

$4d$, în cea de a treia, $_{57}La - _{80}Hg$, cele din substratul 5 d, iar cea de a patra, $_{89}Ac - 104$, incompletă, OA din substratul 6 d.

Metalele tranziționale de tip f au configurația electronică: $(n-2)f^{2-14}\ (n-1)d^{0-1}ns^2$ și formează două serii, lantanidele, Ln, cu $z = 58-71$, așezate în subgrupa a III-a, perioada a șasea și actinidele, Ac, cu $z = 89-103$, așezate tot în subgrupa a III-a, perioada a șaptea a sistemului periodic.

Cele mai stabile configurații electronice ale metalelor tranziționale sînt cele cu OA d sau f complet sau pe jumătate ocupate cu electroni, adică cele cu configurația d^{10} sau d^5, respectiv f^{14} și f^7. Aceste stări electronice explică unele anomalii în legătură cu configurația electronică a metalelor tranziționale care se găsesc la limita acestor configurații cu stabilitate maximă.

Metalele tranziționale au un număr relativ mic de electroni în raport cu numărul total de OA de energie egală sau apropiată. Ele funcționează cu stări de oxidare variabile de la zero sau chiar -1, -2, -3, și pînă la $+8$, în funcție de natura metalului și de condițiile concrete de lucru. În general, metalele tranziționale de tip d, formează cationi bivalenți prin cedarea celor doi electroni din OA ns din ultimul strat, dar pot ceda toți electronii impari din substrat, de pe OA $(n-1)d$, formînd o varietate mare de compuși cu stări de oxidare diferite. La numărul de oxidare maxim, egal cu numărul grupei, metalele tranziționale formează oxizi, oxoacizi și oxosăruri analoge perfect cu cele ale nemetalelor din grupa principală.

Metalele tranziționale de tip f, formează de obicei cationi trivalenți prin cedarea electronilor ns^2 și $(n-1)d^1$.

Ionii metalelor tranziționale dispun de electroni impari și sînt de obicei colorați și paramagnetici, proprietăți utilizate în studiul combinațiilor complexe, inclusiv ale complecșilor biologici și ale metaloenzimelor, atît sub aspectul proprietăților lor magnetice cît și spectrale. Acești ioni dispun de OA disponibile pentru formarea de legături coordinative funcționînd ca acceptori de perechi de electroni ai liganzilor. Astfel, metalele tranziționale și ionii lor prezintă o tendință accentuată de a funcționa ca generatori de complecși și de a forma combinații complexe, cationice, anionice, neelectrolitice, mono- sau polinucleare și complecși chelați.

1.2. Combinații complexe ale metalelor tranziționale

Metalele tranziționale prezintă o tendință însemnată de a forma combinații complexe cu NC : 2—12, avînd ca liganzi diferiți anioni sau molecule anorganice și organice. Această tendință este mai mare

la cele cu configurație electronică d^6, d^8 și d^{10} comparativ cu cele d^7 sau d^9.

Valoarea NC este determinată de configurația electronică, starea de oxidare și raza generatorilor de complex, natura liganzilor, a ionilor din sfera de ionizare, condiții de formare etc.

Din punct de vedere energetic, cele mai probabile NC la ionii cuNO (I), (II), (III) (IV) sînt 2, respectiv 4 și 6.

Combinațiile complexe cu NC = 2 au de obicei configurație lineară, cele cu NC = 4 tetraedrică sau plan pătratică, cele cu NC = 6, octaedrică iar cele cu NC = 8, antiprismă pătratică sau octaedru.

Natura legăturii metal-ligand în combinațiile complexe este explicată cu ajutorul metodei-legăturii de valență — MLV, a lui Pauling sau VB (Valence Bond), a teoriei cîmpului cristalin a lui Bethe (TCC) sau CFT (Cristal Field Theory) și a teoriei cîmpului liganzilor TCL, bazate pe teorii electrono-cuantice.

(NC = nr. coordinare; NO = nr. de orbitali)

1.3. Stabilitatea combinațiilor complexe

În aprecierea stabilității combinațiilor complexe se folosește constanta de stabilitate termodinamică (K_T) și reciproca lui K_T, denumită constantă de instabilitate.

Stabilitatea combinațiilor complexe depinde de mai mulți factori dintre care mai importanți sînt: natura ionului metalic generator de complex, (configurație electronică, sarcină, rază, potențial de ionizare, electronegativitate, polarizabilitate), natura ligandului (sarcină, moment electric, bazicitate etc.) și de afinitățile relative ale atomilor donori pentru ionii sau atomii acceptori.

În funcție de mecanismul de bază care explică formarea combinației complexe, interacțiuni electrostatice și de polarizare sau de tip donor-acceptor, stabilitatea acesteia este condiționată diferit de factorii amintiți. Deoarece procesul de coordinare este analog cu cel al unei reacții acid-bază Lewis, stabilitatea unei combinații complexe este corelată cu afinitatea pentru electroni a atomului metalic central și cu bazicitatea ligandului.

1.3.1. Natura ionului metalic

Tendința ionilor metalici de a forma combinații complexe și stabilitatea acestora este influențată de configurația electronică, de raza și de sarcina lor. Din acest punct de vedere ionii metalici sînt clasați în trei clase: A, B și C.

Clasa A cuprinde cationii cu configurație electronică de octet, ns^2np^6, și manifestă o tendință redusă de a forma combinații complexe,

exceptînd Li^+, Be^{2+}, B^{3+} și liganzii polidentați cu mai mult de 4 atomi sau grupe donoare de electroni, ca de exemplu EDTA și macrocicluri naturale sau sintetice, cu care formează *criptați*, cu specificitate ridicată pentru ionii metalelor alcaline (cap. 3.2.).

Clasa B include cationii cu configurație de 18 electroni. Prezintă o tendință mult mai ridicată de a forma combinații complexe stabile, cu NC = 2, 4, 6 pentru ionii cu NO + 1, respectiv + 2 sau + 3, avînd ca preferință liganzi cu atomi donori N, P, S, CN^-, J^-, cu excepția In^{3+}, Sn^{4+}, cu afinitate mai mare pentru liganzii cu atomi donori, Cl^-, OH^-, O^{2-}.

Clasa C include cationii cu configurație incompletă; prezintă cea mai mare tendință de a forma combinații complexe cu NC variabile, de obicei 4 sau 6.

Formarea și stabilitatea acestora este determinată de modul de ocupare a OA d și de energia de stabilizare în cîmp cristalin (ESCC). După Irving și Williams stabilitatea combinațiilor complexe la ionii din seria 3d, urmează ordinea de mai jos, independent de natura liganzilor coordinați: $Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+}$.

1.3.2. Natura „dură" sau „moale" a ionului metalic și a ligandului

Clasificarea ionilor metalici după preferințele lor de coordinare cu anumiți liganzi și invers, constituie un indiciu deosebit în explicarea sau prevederea stabilității și ale altor proprietăți ale combinațiilor complexe. Avînd în vedere afinitățile relative de coordinare ale atomilor donori și acceptori, Ahrland, Chatt și Davies (1958) au clasificat ionii metalici în două clase notate cu *a* și *b*. Primii formează complecșii cei mai stabili cu liganzi care au ca atom donor primul element din grupele V, VI sau VII, adică N, O sau F, iar ceilalți (clasa b) cu celelalte elemente ale grupelor V, VI și VII.

Cationi din clasa (a)	*Cationi din clasa (b)*
$N \gg P > As > Bi$	$N \ll P > As > Sb > Bi$
$O \gg S > Se > Te$	$O \ll S \sim Se > Te$
$F \gg Cl > Br > I$	$F < Cl < Br \ll I$

Formarea combinațiilor complexe și tăria legăturii metal-ligand poate fi interpretată ca interacțiuni în acid-bază Lewis. În acest scop, ținînd seama de teoria acizilor „duri" și „moi" (HSAB) (Hard and Soft acids and basis a lui Pearson) acceptorii de electroni, metalele și ionii metalici și donorii de electroni, liganzii, sînt clasificați în două clase: *clasa (a)* sau „duri" și *clasa (b)* sau „moi" (tabelul 2).

Tabelul 2

Clasificarea ionilor metalici

Clasa (a) sau „duri"	Intermediari	Clasa (b) sau „moi"
H^+, Li^+, Na^+, K^+ Be^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+} Mn^{2+}, Al^{3+}, Sc^{3+}, Ga^{3+} In^{3+}, Co^{3+}, Gd^{3+}, Cu^{3+} Cr^{3+}, Co^{3+}, Te^{3+}, Si^{4+} Ti^{4+}, Sn^{4+}, WO_2^{4+}, VO^{2+}	Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+} Cu^{2+}, Zn^{2+}, Pb^{2+}, Sn^{2+}, Sb^{2+}, Bi^{3+}	Cu^+, Ag^+, Au^+, Te^+ Hg_2^{2+}, Hg^{2+}, Pd^{2+}, Pt^{2+}, Rh^{2+}, Pt^{4+}, Tl^{3+}

Așa cum se observă, clasa (*b*) se întîlnește în general la elementele înscrise în triunghiul Ahrland-Chatt de mai jos:

			Cu	Zn		
			Pd	Ag	Cd	In
Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Bi

În general caracterul „*dur*" clasa (*a*) este condiționată de potențialul de ionizare și electronegativitate mare, oxidabilitate mică, sarcină electrică sau număr de oxidare ridicat, polarizabilitate și rază mică și tendință accentuată de a forma legături ionice.

Caracterul „*moale*" clasa (*b*), este caracterizată prin potențial de ionizare și electronegativitate mică, oxidabilitate ușoară, sarcină electrică sau număr de oxidare inferior, rază mare și tendință accentuată de a forma legături coovalente și π.

Clasificarea liganzilor în *clasa (a)* sau „duri" *clasa (b)* sau „moi" este redată în tabelul 3.

Metalele și ionii lor din clasa (*a*) preferă liganzii „duri", caracterizați printr-un atom donor de electronegativitate ridicată, greu polarizabil, cu *OA* vacante de energie ridicată, greu accesibile, iar cei din clasa (*b*), liganzii „moi", caracterizați printr-un atom donor de electronegativitate scăzută, ușor polarizabil, cu *OA* vacante de energie joasă, ușor accesibile.

Așa de exemplu ionii (atomii) metalici din clasa (*a*) preferă liganzii în ordinea:

$F > Cl > Br > I$ și $O \gg S \sim Se$
$N \gg P > As > Sb$ iar cei din clasa (*b*) în ordinea:
$S \sim C > I > Br > Cl > N > O > F$.

Tabelul 3

Clasificarea liganzilor

Clasa (a) sau „duri"	Intermediari	Clasa (b) sau „moi"
H_2O, HO^-, F^-, Cl^- CH_3COO^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} CO_3^{2-}, ClO_4^-, NO_3^- ROH, R_2O, NH_3 RNH_2, N_2H_4	$C_6H_5NH_2$, C_6H_5N N_3^-, Br^-, No_2^- SO_3^{2-}, N_2	R_2S, $2S^-$, I_3^- SCN^-, $S_2O_3^{2-}$ R_3P, $(RO)_3P$, PH_3 CN^-, RCN, CO H^-, R^-, C_2H_4

1.3.3. Natura liganzilor

Tendința ionilor metalici de a forma combinații complexe cît și stabilitatea acestora sporește cu creșterea afinității lor pentru electroni și cu creșterea bazicității ligandului, care trebuie să posede cel puțin o pereche de electroni neparticipanți. Datele experimentale indică existența unei dependențe lineare între stabilitatea combinațiilor formate de un ion metalic dat și tăria bazică a unei serii de liganzi înrudiți.

Această dependență este influențată de: substituenții introduși în molecula unui ligand, care poate influența bazicitatea lui, deci densitatea de electroni la atomul donor; capacitatea σ donoare și inducerea unor efecte sterice care pot produce slăbirea legăturii metal-ligand, precum și de structurile de rezonanță posibile ale ligandului.

Disponibilitatea perechilor de electroni neparticipanți ai ligandului influențează natura de clasă (*a*) sau (*b*) a ionului metalic și stabilitatea combinației complexe. Liganzii care transferă sarcina lor negativă la ionul metalic vor contribui la micșorarea stării lui de oxidare și ca urmare la creșterea caracterului de clasă (*b*) al acestuia.

Liganzii „duri" sau „moi" manifestă o tendință accentuată de a se grupa, aduna, cu alți liganzi „duri" sau „moi" în sfera de coordinare a acelea și combinații complexe, fenomen denumit de către Jörgenson (1966), comportare *„simbiotică"* a liganzilor.

Efectul simbiotic al liganzilor poate influența procesele reversibile ale metaloenzimelor deoarece liganzii foarte „duri" sau foarte „moi" pot bloca complet ionul metalic într-o anumită stare de oxidare.

1.3.4. Efectul de chelare

Liganzii care funcționează ca *agenți de chelare*, adică acei ce sînt coordinați la ionul metalic central prin mai mulți atomi donori astfel încît formează un heterociclu, numit *ciclu chelat*, pot forma combinații

complexe a căror stabilitate este mai mare decît a liganzilor monodentați, care conțin aceleași grupe funcționale.

Creșterea stabilității combinațiilor complexe, ca urmare a formării ciclului este cunoscută sub denumirea de *efect de chelare*, dependent de natura ionului metalic. Stabilitatea suplimentară a complecșilor chelați este atribuită unui efect de entropie și parțial și unui efect de entalpie datorat mai ales cîmpului cristalin al ligandului.

Stabilitatea combinațiilor complexe chelate depinde de numărul atomilor din ciclu, numărul ciclurilor și de natura substituenților în molecula ligandului.

Cele mai stabile cicluri chelatice sînt cele formate din cinci atomi pentru liganzii care nu conțin duble legături și din șase atomi pentru cei cu duble legături. La liganzii aromatici sau la cei cu legături conjugate, ciclul chelat de șase atomi este adesea mai stabil decît cel format din 5 atomi.

În cazul combinațiilor complexe cu liganzi polidentați (înrudiți) stabilitatea crește cu numărul ciclurilor formate.

Efectul macrociclurilor și selectivitatea liganzilor polidentați poate fi urmărită la porfirine (p. 27) și la agenții ionofori (p. 66).

1.3.5. Legături multiple

Formarea legăturilor π, alături de legăturile σ constituie un factor important al stabilității combinațiilor complexe. Din acest punct de vedere liganzii pot fi clasificați în următoarele categorii : 1) liganzi care primesc electroni de la ionul metalic central ; 2) liganzi care cedează electroni ionului metalic și 3) liganzi care nu formează legături π.

În general, liganzii sînt donori de electroni și cedează ionului metalic central cîte o pereche de electroni, formînd legături de tip donor (ligandul) — acceptor (ionul metalic).

Ionul metalic poate funcționa însă și ca donor de electroni, iar ligandul cu *OA* vacante sau care pot deveni vacante — ca acceptor de electroni — și să formeze așa-numita *legătură π^* dativă*.

În general, un ion metalic la stare superioară de oxidare determină manifestarea proprietăților donoare ale liganzilor, iar de la o stare inferioară de oxidare pe cea acceptoare ale acestora. În toata cazurile, formarea unei legături π între ionul metalic central și ligand, mărește stabilitatea complexului format.

1.4. Liganzi biologici

Aminoacizii, peptidele, nucleotidele, acizii nucleici, proteinele și porfirinele pot îndeplini în „vitro" sau „în vivo" rol de liganzi. Majori-

tatea aminoacizilor funcționează ca liganzi bidentați și coordinează, de obicei, prin atomii de azot N (amino) și de oxigen, O (carboxilic). Cisteina și penicilina coordinează prin atomii de azot, N (amino) și de sulf, S (sulfhidril). Acidul aspartic funcționează ca tridentat, iar acidul glutamic ca bidentat.

Stereoselectivitatea, reactivitatea, comportarea spectrală și structura cristalină a complecșilor ionilor metalelor tranziționale cu aminoacizi și peptide prezintă interes deosebit în studiul comportării liganzilor naturali, a proteinelor în reacțiile metal-proteine, cît și ca modele în studiul unor sisteme biologice, inclusiv în înțelegerea activității enzimelor.

1.4.1. Grupe funcționale ale aminoacizilor și peptidelor, centre de legare ale ionilor metalici

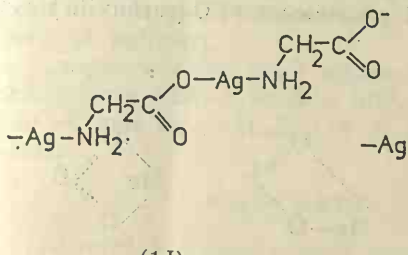
Participarea unei grupe funcționale date într-o legătură metalică depinde de gradul ei de competiție cu grupele funcționale vecine existente și de competiția ionilor metalici și a protonilor de atomii potențial donori.

Tendința atomilor donori de a forma legături Me—L crește cu scăderea pKa în ordinea : COO^-(pKa~1,8), > imidazol (pK~6,5), > > NH_2(pK~9), fiind influențată de variațiile de entalpie și de efecte favorabile ale entropiei.

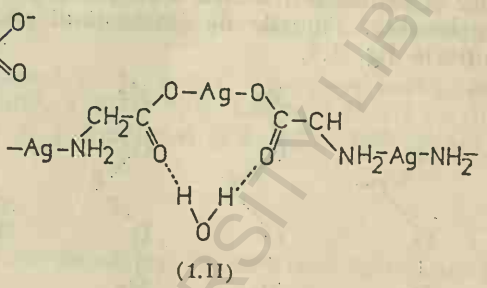
1.4.1.1. Grupe aminoterminale

Cele mai comune puncte de legare ale ionilor metalici la aminoacizi și peptide sînt grupele aminoterminale. Coordinarea la atomul de N (amino), pusă în evidență la complecși cristalizați cu liganzi di și polidentați aminoacizi sau peptide, este favorizată, nu numai de caracterul electron donor și de cîmpul de ligand puternic al acestora, dar și de poziția lor față de atomul de oxigen al grupării carboxilice sau peptidice (—CO—NH—), (niciodată la o distanță mai mare de 3—4 atomi), care favorizează formarea unor cicluri chelate ; valoarea unghiului metal —N (amino)—Cα este apropiat de valoarea tetraedrică, 109° ± 1° în α-aminoacizi, 110° ± 0,4° în peptide și 113° ± 2° în ß-aminoacizi. Formarea chelatului este favorizată de creșterea entropiei sistemului ca urmare a formării moleculelor de apă și a neutralizării reciproce a sarcinilor electrice ale ionului metalic și ale grupărilor COO^-. Așa se comportă glicina, alanina, valina, prolina, leucina, sarcosina, serina, treonina, lizina, arginina, triptofanul, asparagina etc. care coordinează majoritatea ionilor metalelor tranziționale din seria 3d la stări de oxidare, de obicei + 2, cît și ionii Pt^{2+}, Pd^{2+}, Hg^{2+} din seria 4d sau 5d.

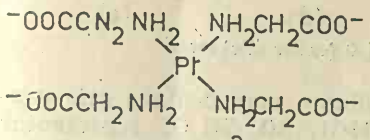
Coordinarea monodentată la gruparea aminoterminală, fără formarea unui ciclu chelat este rar întîlnită, de ex. la complecșii Ag(I) (d^{10})(1. I, II) și Pt(II) (d^8), în glicină (pK_{NH_2}=9,76) (1. III, IV, V).



(1.I)

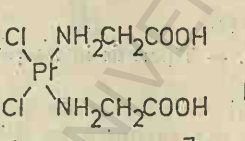


(1.II)



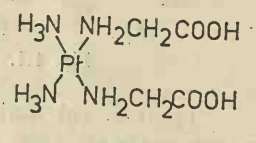
$[Pt(Gly)_4]^{2}$

(1.III)



$[Pt(GlyH)_2Cl_2]$

(1.IV)



$[Pt(GlyH)_2(NH_3)_2]^{2+}$

(1.V)

Coordinarea monodentată a glicinei la Pt(II), (d^8) este avantajată în ultimul caz de creșterea entalpiilor de legătură cu configurație plan-pătratică a Pt(II), ca urmare a creșterii ESCC.

1 4.1.2. Grupe carboxil terminale sau din catena laterală

Participarea grupelor carboxil la formarea de complecși chelați este dependentă de existența în molecula ligandului a unui al doilea atom donor la o distanță adecvată formării unui ciclu de 5 sau 6 atomi. Aminoacizii α și ß satisfac această cerință. Poziția grupării COO^- terminale ale peptidelor, față de cealaltă grupare donoare, nu este favorabilă formării unui complex chelat, exceptînd ca grupă terminală COO^- a histidinei.

Interacțiunile Metal-O(carboxilic) cu peptide pot fi deci nechelatizante sau absente. La valori de pH la care aminoacizii și peptidele se găsesc sub formă amfionică, $H_3NCHR(CONH\text{-}CHR)_n\text{-}COO^-$, la care grupările bazice din catena laterală, ca de ex. imidazolul, sînt protonate, grupările carboxil încărcate negativ sînt singurele accesibile pentru legarea imediată a ionului metalic. În aceste condiții probabilitatea formării legăturii ion metalic-carboxil este maximă pentru ionii metalici

neafectați de ESCC, adică pentru cei cu configurația electronică d^0, d^5 și d^{10}.

Structurile cristaline ale multor combinații complexe ale aminoacizilor și peptidelor, indică o coordinare monodentată prin atomii de O (carboxilic). Tipurile de interacțiuni posibile metal-O (carboxilic) sînt indicate fig. 1.1.

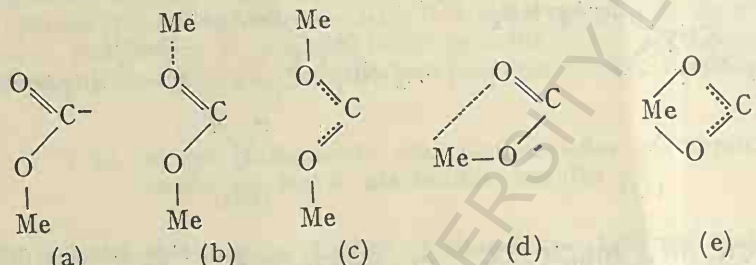
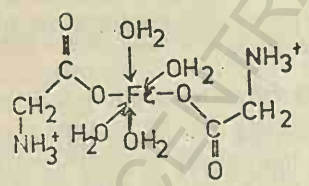
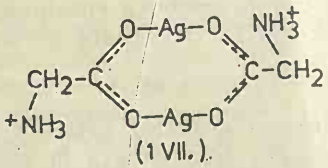


Fig. 1.1. — Tipuri de interacțiuni O (carboxilic) metal

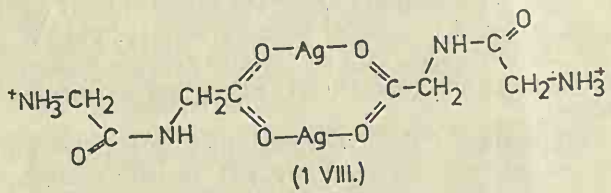
Tipul *a*, cel mai simplu tip de coordinare monodentată prin gruparea carboxil este rar întîlnită în $Fe(HGly)SO_4\ 5H_2O$, reprezentat mai corect prin formula : $[Fe(H_2O)_6][Fe(HGly)_2(H_2O)_4]SO_4$ (1. VI) iar coordinarea Ag(I) în complexul $[Ag(HGly)NO_3]$ (1. VII) și $[Ag(HGly\text{-}Gly)]NO_3$ (1.(1. VIII) de tip (c) este aproximativ diagonală, cu configurația sin-sin a legăturii în jurul grupării carboxilice.



(1 VI.)



(1 VII.)



(1 VIII.)

Formarea tipului (d) cu ciclul chelat nesimetric de 4 atomi are loc numai în cazurile în care nu este posibilă sau este energetic defavorabilă obținerea unui chelat prin participarea grupării carboxilice cu o altă grupare donoare de electroni.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

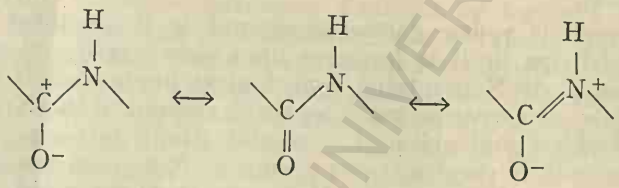
În cazurile în care un atom O (carboxilic) este implicat într-un ciclu chelat, cel de al doilea O (carboxilic) poate forma legături de hidrogen sau o legătură cu alt atom metalic de la un complex adiacent.

Interacțiunile de tip a, b, c (fig. 1.1) sînt frecvent întîlnite la complecșii în stare solidă și contribuie la stabilitatea în soluție a complecșilor dimeri și polimeri.

Lungimea celor două legături C—O donor — grupare carboxilică variază între 1,26—1,30 Å și între 1,22—1,27Å. Unghiul M—O (carboxilic)—C este apropiat de 114° în pentacicluri și de 123—126° la hexacicluri.

1.4.1.3. Grupări peptidice

Atomul de oxigen al grupării peptidice, cu structura de rezonanță



are un caracter slab bazic; legătura O (peptidic)-metal, atunci cînd apare, este stabilizată de formarea unui ciclu chelat cu o grupare învecinată $-NH_2$ terminală.

Atomul de N (peptidic) leagă un atom metalic numai în cazurile în care procesul este însoțit de disocierea unui proton peptidic care implică pierderea rezonanței peptidice și trecerea de la hibridizarea sp^2, trigonală, la sp^3, tetraedrică, cu formarea celei de a 4-a legături.

1.4.1.3.1. Atomii de O (peptidici)

Interacțiunile între ionii metalici și atomii de O (peptidici) au loc fără, sau cu formare de cicluri chelate. Primele sînt rar întîlnite la ioni metalelor alcaline și alcalinoteroase, cu caracter ionic accentuat, stabile chiar în soluție.

În interacțiunile chelatizante, frecvent întîlnite, participă ca atomi donori alături de O (peptidic) și atomii N (amino). Pentaciclurile cu atomi donori N (amino) și O (peptidic) sînt stabile în soluția metal-peptidei.

1.4.1.3.2. Atomii de N (peptidici)

Labilizarea protonilor peptidici și formarea legăturii metal-N (peptidic) în locul legăturii metal-O (peptidic) este limitată la metalele la care valoarea ESCC crește semnificativ prin substituirea atomilor de azot de cîmp intens cu atomi cu cîmp de ligand slab, avînd oxigenul ca

atom donor. Astfel de complecși formează Co(III) (d^6), Co(II) (d^7), Ni(II), Pd(II), Pt(II) (d^8) și Cu(II) (d^9).

Cîmpul de ligand exercitat de către N (peptidic) asupra ionilor metalici se manifestă în mod diferit. Disocierea protonilor peptidici facilitează formarea legăturilor N (peptidic)-metal fără pierderea energiei de rezonanță peptidică, labilizarea protonilor peptidici fiind în mare măsură un efect de entalpie. Protonii moleculelor de apă coordinate pot fi și ei labilizați după deprotonizarea tuturor grupărilor peptidice capabile de a forma legături metal-N peptidic.

În sistemele metal-peptide există echilibre complexe între specii mononucleare, stabile la concentrații inferioare $\sim 10^{-3}$ M, specii polinucleare la concentrații mai ridicate $\geqslant 10^{-2}$ M, ionii Me(II) și H^+, ceea ce indică un proces de deprotonizare succesivă a complexului la creșterea pH-ului.

Din punct de vedere geometric atomul de O (peptidic) coordinat nu poate participa decît la formarea unor cicluri cu 5 și 6 atomi. În schimb, atomul de N (peptidic), deprotonizat poate include ușor două cicluri chelate adiacente avînd o legătură comună metal-N (peptidic). Atomii donori cei mai obișnuiți, care sînt situați într-o poziție chelatizantă adiacentă N (peptidic) sînt atomii de N (amino) sau de N (peptidic) din catena NH_2 terminală, N (peptidic), O (peptidic), O (carboxilic), N-histidil (imidazol) sau S-metionil (tioeter) de la o catenă COOe terminală.

Un atom de N (peptidic) și doi atomi donori adiacenți acestuia într-o peptidă tri sau tetradentată pot fi coordinați la același atom metalic, numai dacă ei ocupă poziții de coordinare coplanare. În acest mod nu au loc decît distorsiuni angulare mici de la configurația trigonală normală (sp^2) a legăturii în jurul atomului de azot. Astfel se explică de ce un atom de N (peptidic) poate să aparțină numai la două pentacicluri chelate sau la un penta și la un hexaciclu, dar nu și la două hexa cicluri.

Coordinarea la N (peptidic) este însoțită de modificări în lungimea legăturilor C=O (de la 1,24 la 1,26 Å) și la legături C—N, de la 1,325 Å la 1,30 Å la complecșii Cu (II), ceea ce denotă o micșorare a contribuției structurii de rezonanță $-\overset{|}{N}-\overset{|}{C}=O$ în favoarea structurii $=N^+=\overset{|}{C}-O^-$, adică o deplasare electronică spre metal mai mică decît cea spre protonul înlocuit de Cu^{2+}, confirmare dată și de spectrele IR ale complexului Cu (II) — peptidă în D_2O.

Complecșii Ni (II) cu peptide sînt octaedrici și paramagnetici sau plan-pătratici și diamagnetici și au o stabilitate puțin inferioară celor ai Cu (II). Creșterea intensității cîmpului de ligand favorizează, prin creșterea ESCC, configurația plan-pătratică, deprotonizarea grupării

peptidice și micșorarea distanței între atomii donori și metal cu 0,2 Å, comparativ cu configurația octaedrică.

Ionii Pd(II) și Pt(II) cu aceeași configurație electronică ca și Ni(II), induc ionizarea hidrogenilor peptidici și formarea unor complecși cu configurație plan-pătratică, în care atomii de N (peptidic) deprotonizați constituie centre de legare ai ionului metalic.

Ionul Co(II) favorizează disocierea protonului peptidic la pH = 10 la complecșii octaedrici metal-ligand 1 : 2, avînd ca atomi donori doi N (amino) și doi N (peptidic), generatori de cîmp puternic de ligand.

1.4.1.4. Atomii de N(imidazol)

Imidazolul p.t. 90° și p.f. 256°, este o bază cu $K_b = 1{,}1.10^{-7}$ și prezintă bune proprietăți donoare de electroni; în seria spectrochimică el este așezat în apropierea apei, după N-amino și N (peptidic) și formează legături covalente puternice. Entalpia de legătură metalică-N (imidazol) într-un proces de complexare, are o valoare apropiată de cea a legăturii metal-N (amino), cea mai mare contribuție datorîndu-se legăturii σ; nu trebuie neglijate însă posibilitățile formării unor legături π și efectele ESCC (8—9). Formarea legăturii $d_\pi—p_\pi$, dependentă de complex, are însă un rol inferior în stabilizarea legăturii cu N (imidazol), comparativ cu N (amino) și N (peptidic).

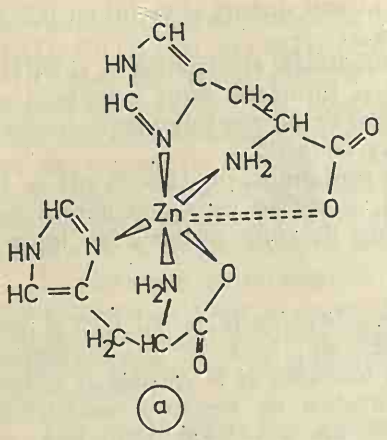
Interacțiunile Me-imidazol sînt nechelatizante.

Ca ligand, imidazolul prezintă o mare flexibilitate; legăturile metal-N (imidazol) sînt situate la 30° față de planul moleculei imidiazolului iar unghiul metal-N (imidazol)-C la atomii donori variază între 121—131° la ciclurile imidazol neîmpiedecate steric. Mișcările de rotație ale imidazolului în jurul legăturii metal-N (imidazol) par a fi guvernate, mai ales, de factori sterici (geometrici) decît de cei electronici, delocalizarea electronilor π fiind dovedită chimic, magnetic și spectroscopic.

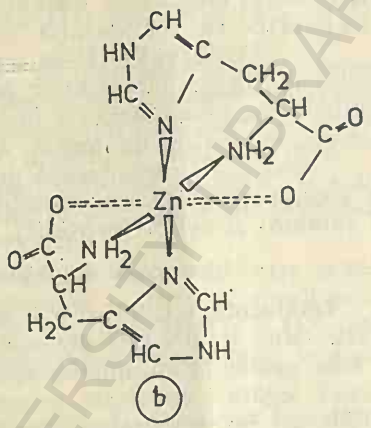
Frecvența grupărilor imidazol ca centru de legare al ionilor metalici o constituie și accesibilitatea lor la un pH fiziologic. O serie de histidil peptide au $pK_{ImH_2^+} \sim 5{,}5 — 7{,}2$ iar catenele laterale histidil sînt grupări importante în legarea ionului metalic în metalo-proteine.

1.4.1.5. Chelatarea cu histidină

Histidina, aminoacid cu structura protonată H_2His^{2+} (1.IX) $pK_{COOH} = 1{,}8$, pK imidazolium = 6,0, $pK_{NH_3} = 9{,}1$ și p^K imidazol = 14, prezintă o tendință mare de a funcționa ca ligand mono sau polidentant Coordinarea histidinei poate fi monodentată prin atomul de O (carboxilic), la pH < 4, prin atomul N (imidazol) cu formarea unui ciclu chelat cu 7 atomi (1. IX), la N (amino) funcționînd ca tridentat la 4 < pH < 11 sau prin ionizarea celui de al doilea proton al grupării imidazol.



a



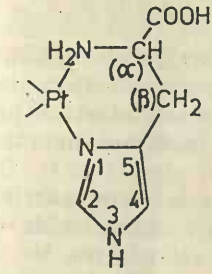
b

$Zn(L\text{-}His)_2$ în $Zn(L\text{-}His)_2 \cdot 2H_2O$ (a) și $Zn(D\text{-}His)(L\text{-}His) \cdot 5H_2O$ (b)

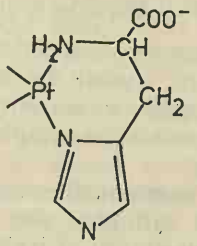
(1.IX)

Complecșii Co (II), Ni (II) cu histidina de tipul $Me(L\text{-}Hist)_2$ sînt octaedrici, cei ai Zn (II), bazați pe o structură tetraedrică, de tipul $eZn(L\text{-}His)_2$, $Zn(L\text{-}His)_2 \cdot 2H_2O$ și $Zn(O\text{-}His)(L\text{-}His) \cdot 5H_2O$ cu legături puternice Zn-N (amino) și Zn-N (imidazol) și două legături Zn-O (carboxilic), au configurații diferite ; cei ai Pt(II) și Pd(II), de tipul $[Pt(H\ Hist)_2]^{2+}$ și $[Pt(H-1\ His)_2]^{2-}$ au o configurație plan-pătratică în toate domeniile pH-ului $1 \leqslant pH \leqslant 12$ (1. X, 1 — XI).

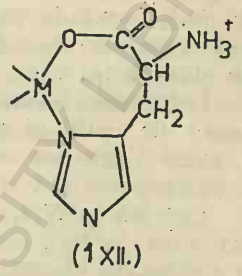
Coordinarea Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) și Cd(II) cu histidina este monodentată și are loc la atomul de oxigen (carboxilic), la pH-uri mici, formîndu-se complecși 1 : 1. În cazul Co(II) la $pH < 4$ se formează complexul $Co^{II}(His)_2$, cu coordinare unidentată la O(carboxilic), la $4 < pH < 11$ complecși octaedrici 1 : 1 și 1 : 2 în care histidina funcționează ca tridentat, iar la pH superior, complecși tetraedrici $[Co(L\text{-}H\text{-}1\ His)_2]^{2-}$, colorați în albastru, în care histidina funcționează ca bidentat avînd ca atomi donori atomii de azot N(amino) și N (imidazol). Pt(II) este coordinată la histidină prin intermediul atomilor de azot aminic și imidazol (1), domeniile $1 \leqslant pH \leqslant 12$; la pH scăzut are loc formarea complexului (1.X), iar la pH ridicat a complexului (1.XI) cu configurații plan-pătratice. În cazul în care chelatarea histidinei are loc prin intermediul atomului de oxigen, O(carboxilic) și a atomului de azot, N (imidazol), are loc formarea unui complex chelat $Me(HHis)^{2+}$, al cărui ciclu este format din 7 atomi (1.XII.).



Coordinarea în $[Pt(H\ His)_2]^{2+}$
(1X.)

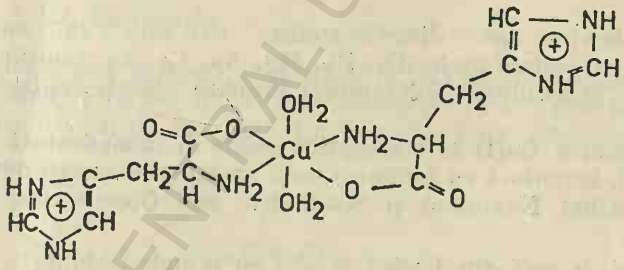


Coordinarea în $[Pt(H_{-1}\ His)_2]^{2-}$
(1XI)



(1XII.)

Structura cristalină a complexului $[Cu(L\text{-}HN_2Y)_2(OH_3)_2]\ (NO_3)_2$ (1. XIII) la pH 3,7 indică coordinarea Cu(II) prin intermediul atomului de azot N(amină) și de oxigen, O(carboxilic), ambii atomi de azot ai grupării imidazol, sînt protonizați și nu participă la formarea chelatului. (1. XIII).



(1.XIII)

Structura complecșilor Cu(II)-histidină, $Cu(H\ His)^{2+}$ și $Cu(H\ His)^{2+}$ indică o coordinare prin intermediul atomilor de N(amino și N(imidazol) la pH ridicat.

1.4.1.6. Atomii de O(hidroxil) din catena laterală

Gruparea hidroxil din catena laterală a serinei, treoninei, tirozinei nu constituie un punct de coordinare pentru o legătură cu metale ; coordinarea are loc prin N(amino) și O(carboxilic). Structura cristalină a $Ni(L\text{-}Ser)_2\ (OH_2)_2$, $Cu(L\text{-}Ser)_2$ și $Zn(L\text{-}Ser)_2$ confirmă acest mod de coordinare.

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1.4.1.7. Atomii de sulf ai grupărilor sulfhidril, ticeter și de disulfură

Sulful cu electronegativitate (2,5), inferioară oxigenului (3,5), și cu polarizabilitate superioară, așezat în seria spectrochimică după Br^- (sub formă de tioeter la mijlocul seriei) prezintă o tendință superioară oxigenului de a forma combinații complexe cu ionii metalici „moi" din clasa b (p. 14)

Legăturile formate în combinațiile complexe la care participă atomii de sulf ai grupării sulfhidril sînt legături dative σ Me←L, în cazul liganzilor ușor polarizabili și legături π retrodative Me→L, cu participarea OA dπ ale metalului și OA d_π sau p_π ale ligandului.

Cisteina ($p^KNH_2 = 10{,}78$), cu o grupare — SH relativ reactivă și metionina ($p^KNH_2 = 9{,}13$) aminoacizi esențiali organismului, formează combinații complexe în special cu ionii metalici din clasa b, dar și cu Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) și Pb(II), cu stabilitate superioară complecșilor acelorași metale cu glicina și histidina.

Coordinarea normală a ionului metalic are loc prin intermediul atomului (N(amino) și S(sulfhidril) (la pH ridicat) dar poate coordina și prin atomii de O și de S la pH scăzut Se cunosc și comple și în care cisteina funcționează ca tridentat, coordinarea avînd loc prin N(amino), S(sulfhidril) și O(carboxilic), ca de ex. în $Na_2[Mo^V(L\text{-}H-1\ Cys)_2O_4] \cdot 5\ H_2O$.

Penicilamina sau dimetilcisteina, utilizată ca antidot în intoxicații cu metale grele (Cu, Pb, Hg, Au, Co, Zn) coordinează prin atomii de S(sulfhidril) și N(amină) formînd chelați pentaciclici, stabili.

Coordinarea Cu(I) la mercaptide poate fi monodentată prin atomul de sulf, bidentată cu formarea unui chelat prin atomii de N(amino) și O(carboxilic), N(amino) și S(sulhidril) sau O(carboxilic) și S (sulfhidril).

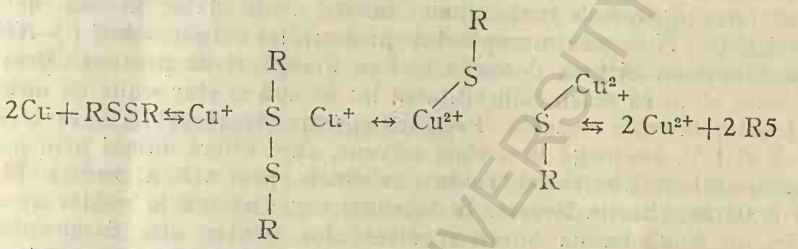
Atomul de sulf din tioeteri — $\ddot{S}$ — cu o polarizabilitate inferioară grupării — S și proprietăți donoare inferioare, ar trebui să fie un bun acceptor de electroni d π ; singurii ioni metalici legați la catena laterală a metioniei — CH_2 — CH_2 — SCH_3 sînt ionii din clasa b, cu configurație electronică d^8 și d^{10}, adică ionii Pd (II), Pt(II), Ag(I), Cu(I) și Hg(II).

Cicluri hexachelate cu participarea atomilor N(amino) și S(tioeter) formează Pt(II), Pd(II), iar cu participarea N(peptidic) și S(tioeter Pt(II), la pH jos (grupările carboxil fiind protonizate).

În complexul $[Ag(Met)_2]^-$ coordinarea are loc numai prin atomul de sulf; grupările NH_2 și COOH libere pot participa la formare de complecși chelați cu ioni metalici din clasa a. Astfel de complecși micști cu Cr^{3+}, Co^{3+}, Ce^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Ca^{2+} sînt cunoscuți.

În complecșii de tip $Me_{II}(Met)_2$, (M = Mn, Co, Ni, Cu), Cd, Pb și cei de tipul $[M_{III}(Met)_3]$ (M_{III} = Al, Cr, Bi, Fe, Rh) gruparea $S\text{-}CH_3$ nu este implicată în formarea legăturii (53), coordinarea avînd loc prin N(amino) și O(carboxilic).

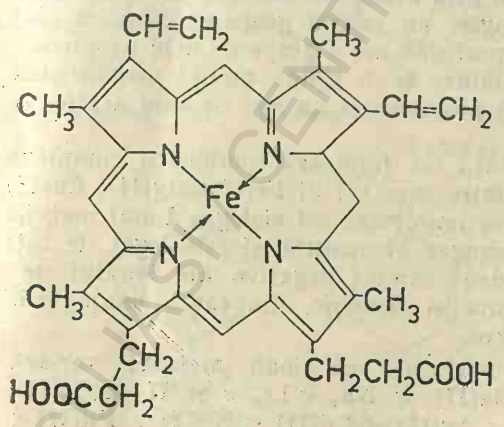
Puntea disulfură — S — S — a cistinei, frecventă în numeroase proteine, constituie un centru reactiv pentru unii ioni metalici Ag(I), Cd(I). Cu(II) este redus de cisteină la Cu(I) și nu este coordinat de fapt. Complexul conține cupru într-o stare de oxidare nedefinită, datorită echilibrelor:

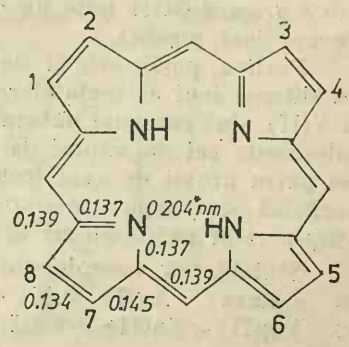


Reducerea de către cistină a Cu^{2+} la Cu^{+} nu are loc în prezența histidinei, ligand specific Cu^{2+}.

1.4.2. Porfirinele

Porfirinele sînt derivați ai porfinei (1. XIV), heterociclu format din patru nuclee pirolice, unite între ele în pozițiile α prin patru grupe CH, în care atomii de hidrogen (n pozițiile β ale nucleelor pirolice)





(1.XIV)

sînt substituiți prin alchili sau alte grupe. Nucleul porfinic este plan iar cei doi atomi de hidrogen din interiorul ciclului sînt localizați la doi din cei patru atomi de azot, din care cauză în molecuă apar două perechi de nuclee pirolice diferite.

În porfirinele care interesează fiziologia și patologia umană (1. XIV b), substituenții din nucleul porfinei sînt radicalii metil ($-CH_3$), vinil ($-CH=CH_2$), carboximetil ($-CH_2COOH$) sau carboxietil ($-CH_2CH_2COOH$). Conțin 11 legături duble conjugate care explică culoarea lor roșie închisă. Sînt compuși stabili, cu caracter aromatic și amfoter; grupările carboxil sînt funcții acide slabe, atomii de azot terțiar($(=N-)$sînt acceptori de protoni, iar cei secundari ($-NH-$) pot funcționa atît ca donori cît și ca acceptori de protoni, deci atît ca baze cît și ca acizi. Solubilitatea lor în apă și eter scade cu numărul catenelor laterale neacide. Prezintă spectre de absorbție caracteristice în V și UV, analoage în același solvent, care diferă numai prin poziția maximului de absorbție. Toate porfirinele prezintă o bandă în jur de 400 nm (banda Soret). În solvenți organici sau în mediu apos alcalin, pe lîngă banda Soret, spectrele lor conțin alte 6 maxime. În amestec de eter și acid acetic conțin 4 benzi distincte între 494 și 632 nm. Sînt ușor extrase cu acid acetic dil., din care la pH 4—6 pot fi extrase cu solvenți organici, în special alcolul n-butilic și acetatul de etil. Diferențierea porfirinelor purificate se face cromatografic pe hîrtie sau electroforetic; viteza de migrare depinde de numărul grupărilor carboxilice.

Un exces de porfirine sau ale precursorilor lor în organism produc maladii ereditare sau dobîndite, cunoscute sub denumirea de *porfirii*, însoțite de o eliminare a lor prin urină sau fecale în cantități mari (profirinurie). Porfirinele patologice nu conțin gruparea vinil și sînt bogate în grupe carboxil coproporfirina are 4 grupe de acid propionic, cîte una la fiecare inel pirolic alături de o grupă metil; uroporfirina are 8 grupe COOH (cîte un rest propionic și un rest de acid acetic, la fiecare inel pirolic).

Porfina, porfirinele și derivații lor formează combinații complexe cu diferiți ioni ai metalelor, dintre care cei ai Fe(II), Mg(II), Cu(II) și V(II), sînt compuși naturali cu important rol biologic. Ionul metalic nlocuiește cei doi atomi de hidrogen ai azotului și este legat de toți cei patru atomi de azot, cele două sarcini negative ale ionului de porfirină sînt repartizați uniform și simetric, din cauza conjugării, asupra celor patru atomi de azot.

Stabilitatea complecșilor porfirinei cu ionii metalici variază în ordinea: $Ag(I)_2 < K_2 < Ba(II) < Na_2 < Li_2 < Sn(II) < Cd(II) < Mg(II) < Zn(II) < Cu(II) < Ag(II) < Cd(II) < Ni(II) < Pd(II) < Pt(II)$.

Metaloporfirinele, isoelectronice cu ftalocianinele au tendința de a fixa ușor una sau două molecule de ligand monodentat pentru a forma complecși penta sau hexacoordinați. Așa, de exemplu, cercetări privind studiul echilibrelor complecșilor Zn(II), Cd(II) și Hg(II) cu α, ß, γ și δ - tetrafenilporfirine cu piridine substituite, au arătat că fiecare moleculă de piridină se adiționează la un ion metalic. Tendința complecșilor analogi ai Cu(II) și Ni (II) față de piridină este inferioară.

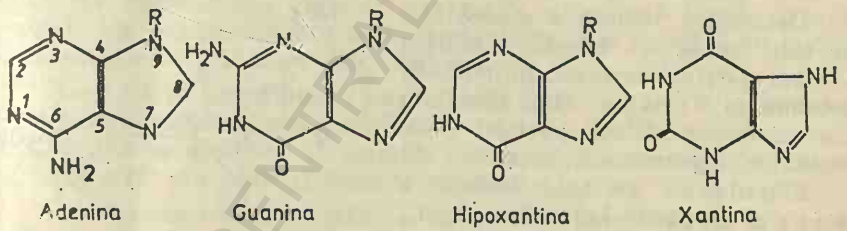
Introducerea unor grupări donoare și acceptoare de electroni în ciclul porfirinic influențează tendința metaloporfirinelor de a adiționa liganzi. În general, grupările electron donoare micșorează capacitatea de coordinare a aminelor, iar grupările electron acceptoare o mărește.

1.4.3. Nucleozide și nucleotide

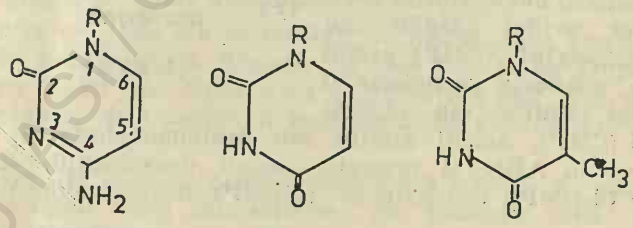
Constituenți ai acizilor nucleici, *nucleozidele* sînt formate dintr-o bază azotată și o pentoză, iar *nucleotidele* conțin în plus acid fosforic.

Bazele azotate pot fi purinice : adenina (A), guanina (G) și mai rar, hipoxantina, (ionozina, (I), și xantina (X) (1. XV a) sau pirimidinice : citozina (C), timina (T) și uracilul (U). (1. XV b).

Pentoza este D-riboza sau D — 2 — dezoxiriboza ; legătura dintre pentoză și baza azotată este de tip β — glicozidic și se stabilește la



(1.XVa)

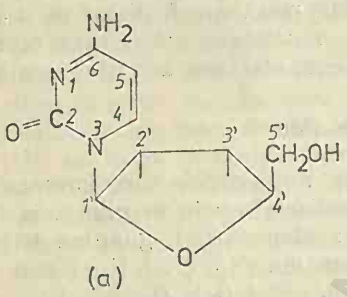


(1.XVb)

nivelul grupării — OH semiacetalice din pentoză și atomul N_{-9} din ciclul imidazolic pentru bazele purinice, respectiv atomul N_{-3} din ciclul pirimidinic pentru bazele pirimidinice.

Nucleozidele sînt deci N —9—glicozide purinice sau N —3—glicozide pirimidinice.

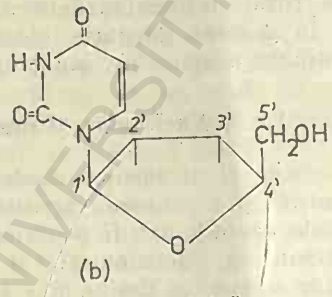
Formulele generale ale nucleozidelor purinice sau pirimidinice ale ribozei numite și *ribonucleozide*, respectiv cele ale dezoxiribozei numite *dezoxiribonucleozide*, sînt redate în (1. XVI—1—X VIII).



(a)

citidină

(1.VI)



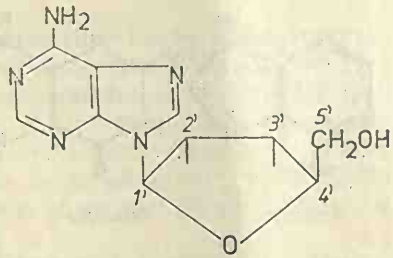
(b)

uridină

(1.VII)

Denumirea uzuală a nucleozidelor este aceea a bazelor + sufixul — *idină* pentru derivații pirimidinici (citidină (a), uridină (b), timidină) și — *ozină* pentru cei purinici (adenozină (c), guanozină, inozină).

Esterificarea cu acid fosforic a uneia din grupările hidroxilice C_2, C_3 sau C_5 ale pentozei duce la obținerea esterilor fosforici ai nucleozidelor adică a *nucleotidelor*, acidul adenilic sau adenozinmonofosfatul (AMP), acidul guanilic sau guanozin monofosfatul (GMP), acidul citidilic sau citidinmonofosfatul (CMP), acidul uridilic sau uridinmonofosfatul (UMP) care se găsesc în ARN și respectiv acizii deoxiadenilic (d-AMP) deoxiguanilic (d-GMP), deoxicitidilic (d-CMP), deoxitimidilic (d-TMP) în ADN.

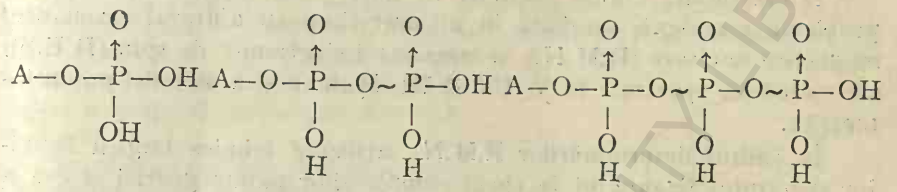


(c) adenozină

(1-XVIII)

Acidul adenilic (AMP) mai poate fixa una sau două molecule acid fosforic și să formeze acidul adenozindifosforic (ADP), respec-

tiv adenozintrifosforic (ATP); fixarea are loc la radicalul fosfat existent în molecula acidului adenilic, prin legături macroergice, notate cu simbolul ~ , care prin hidroliză eliberează energie de 7,6 —7,8 Kcal/mol fosfat:



AMP ADP ATP

(1.XX) (1.XXI) (1.XXII)

În procesele metabolice, acizii adenilici au un rol important deoarece trec reversibil dintr-o formă în alta, fixînd sau cedînd o cantitate de energie:

$$ATP \rightleftarrows ADP + H_2PO_4 + 7{,}8 \text{ Kcal}$$

Nucleotidele și nucleozidele se găsesc atît sub formă liberă în țesuturile organismelor animale și vegetale, cît și sub formă de componente ale acizilor nucleici în nucleoproteide. Ele prezintă un maxim de absorbție în UV între 250—280 nm.

Nucleotidele coordinează ioni metalici și servesc sub această formă ca substrat, cofactor, sau modificator alosteric în diferite reacții enzimatice. Așa de exemplu, în reacțiile de transfosforilare enzimatică este implicat ATP sau ADP și ionul Mg^{2+} ca și cofactori.

Coordinarea ionilor metalici la nucleotide poate avea loc la atomul N-6 al bazelor heterociclice, la grupările hidroxilice ale pentozei sau la grupările fosfat accesibile.

Dintre cele trei centre posibile de legare, baza azotată, riboză și grupările fosfat, riboza dispune de cele mai slabe grupări donoare. Gruparea fosfat are capacitatea coordinativă cea mai mare, pentru ionii metalelor de tranziție și ionii metalelor alcaline și alcalino-pămîntoase.

În ceea ce privește ordinea stabilității relative a complecșilor metalici, cu unele baze nucleotidice, ele urmează seria care nu se respectă întotdeauna

$$G > A; \quad C > U, T.$$

Logaritmul constantelor de stabilitate a complecșilor de Cu(II) cu baze purinice prezintă următoarele valori: purină (1,9) — adenină (2,7) — metil-adenină (2,7) — 9 — metil-adenină — (1,7).

Interacțiunile ionilor metalici cu nucleozide și nucleotide sînt o problemă complexă, studiată în ultimul timp cu ajutorul rezonanței magnetice nucleare (R.M.N.), a rezonanței electronice de spin (R.E.S), ale metodelor spectrale în V, UV și IR, Raman și a metodei potențiometrice.

În cadrul determinărilor R.M.N., utilizînd tehnica lărgirii benzilor spectrului ligandului în cazul complecșilor paramagnetici și cea a deplasării liniilor pentru complecșii ionilor diamagnetici, s-a arătat că ionii Mg^{2+} și Ca^{2+} deplasează liniile γ și β ale fosfatului din ATP, indiciu al coordinării lor la cele două poziții fosfat terminale, probabil datorită chelatizării.

În ADP numai pozițiile fosfat (α și β) sînt accesibile coordinării iniile corespunzătoare acestor grupe fiind deplasate numai de Mg^{2+} În cazul ionilor Ca^{2+} și Zn^{2+} nu se observă o deplasare din cauza solubilității mici.

Lărgirea liniei în cazul complecșilor de Cu(II) indică formarea unor complecși similari cu cei ai Zn^{2+}; lărgirea liniei H —8 și a liniei β și γ a fosfaților din ATP sînt interpretate ca un rezultat al legării Cu(II) la N_{-7} și la cei doi fosfați terminali.

În cazul complecșilor Cu(II) — ADP, legarea Cu(II) se face la N_{-7} și la grupările fosfat din poziția α și β. La complecșii cu AMP, Cu(II) se leagă tot la N_{-7} și la gruparea fosfat; în complexul cu Mn(II) al ATP, legarea ionului metalic se face la trei grupări fosfat, la fel, în cazul Ca(II) și Ni(II).

Mg(II), Ca(II), Cr(II) se leagă numai la fosfat, în timp ce legarea Mn(II) și Ni(II) și Zn(II) se face atît la fosfat, cît și la bază.

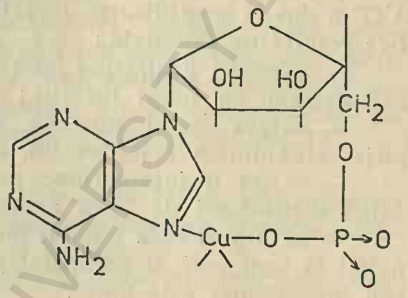
Legarea ionilor metalici de nucleul bazei azotate se face la N_{-7} (și la alți atomi de azot din heterocicluri) ai adenin nucleotidelor și nucleozidelor.

În ceea ce privește măsura în care gruparea NH_2 contribuie la formarea unui ciclu chelat, în afară de N_{-7}, Schneider (303) sugerează pentru prima dată, că, probabil, gruparea — NH_2 nu este interesată; perechea de electroni neparticipanți ai N este necesară pentru a stabiliza un sistem ciclic electron deficitar, iar o astfel de interacțiune electronică ar necesita coplanaritatea grupării —NH_2 și a ciclului.

Pentru ca gruparea $-NH_2$ să participe la chelatizare ea trebuie să se orienteze într-un plan perpendicular pe ciclu, o astfel de orientare fiind puțin plauzibilă, avînd în vedere deficitul de electroni menționat anterior.

Dovadă că gruparea amino nu intervine în chelatizarea cu Cu(II) a fost obținută de Eichorn (78) și alți autori care au demonstrat că locul preferat de legare a ionilor metalici este la N_{-7}, dar dovezile de legare a grupării amino, nu sînt concludente.

În ceea ce privește problema relației dintre fosfat și bază, diferiți cercetători admit posibilitatea ionilor metalici de a forma un ciclu chelat mare, prin legarea simultană a fosfatului și a bazei (1. XXIII).



(1 XXIII.)

Deoarece viteza de hidroliză a ATP crește de 53 de ori în prezența ionilor de cupru (II), se presupune că ei catalizează hidroliza legăturilor P—O—P datorită unui efect de respingere a electronilor.

Legarea ionului Cu(II) pe aceeași moleculă de ligand, simultan la bază, și fosfat este controversată.

În sistemele Mn(II) sau Ni(II) — AMP și ATP în raport de 1 :1 : 1 s-a pus în evidență o lărgire a picului de rezonanță magnetică de proton, atît pentru ATP cît și pentru AMP; constanta de legare a ATP cu Mn(II) este de 300 ori mai mare decît a Mn(II) — AMP. Această dovadă a dus la postularea legăturii metalice la N_{-7} a unei molecule și a fosfatului altei molecule.

Lărgirea unor picuri din spectrul R.M.P. al izomerilor AMP sub acțiunea Cu(II) a fost utilizată în elucidarea modului de legare a ionilor metalici în nucleotide.

Studiile spectrofotometrice și titrimetrice au indicat că sistemul Hg(II) — 5′ AMP este foarte sensibil la variațiile de pH. Acest fapt sugerează că Hg(II) este legat în adenozină la o grupare amino prin deplasarea unuia din protonii aminei, comportare confirmată de constatarea că Hg(II) nu formează o legătură cînd gruparea amino este blocată prin reacția cu aldehide.

Ag(I) se aseamănă cu Hg(II) în deplasarea maximului de absorbție al adeninei și adenozinei la pH alcalin. Adenosina leagă de asemenea Ag(I) de gruparea amino prin deplasarea unui proton.

La combinarea ionilor metalici cu nucleozide și nucleotide se observă uneori deplasări spre λ mai mici sau mai mari, de la maximul de absorbție al acestora 250 ≃ 280 nm, ca urmare a interacțiunii ionilor metalici cu o parte a bazei purinice sau pirimidinice.

1.4.3.1. Stabilitatea complecșilor

Importanța biologică mare acordată complecșilor metalici ai ATP a dus la amplificarea cercetării lor. Din sinteza datelor bibliografice rezultă următoarele :

— numărul grupărilor fosfat ale nucleotidului determină gradul de interacțiune cu ionul metalic ;

— natura bazei purinice sau pirimidinice influențează foarte puțin stabilitatea complexului, în special di- și trifosfatnucleozidele ;

— există o interacțiune preferențială pentru anumiți ioni metalici dependenți de baza azotată ;

— natura și raza ionului metalic influențează mult interacțiunile, astfel la unii ioni ai metalelor grele interacțiunea cu bazele purinice sau pirimidinice este mare.

Constantele de stabilitate ale complecșilor Mg(II), cu ATP, ADP și AMP, cazul adenin nucleotidelor, cresc cu numărul și cu gradul de ionizare al grupelor fosfat astfel : ATP > ADP > AMP și ATP^{4-} > > ADP^{3-} > ADP^{2-} ≈ AMP (izomeri).

Constantele de stabilitate ale complecșilor adenin nuclotidelor ATP, ADP și AMP cu ioni ai metalelor tranziționale scad în ordinea : Cu(II) > Ni(II) > Zn(II) > Mn(II) > Co(II) > Mg(II) > Ca(II) Sr(II) > Ba(II)

Pentru un ion metalic dat, succesiunea constantei de stabilitate a legăturii nucleotidei este : ATP > ADP > AMP.

Constantele de stabilitate a trifosfat nucleozidelor pentru un anumit ion metalic variază puțin în seria ATP ≈ GTP ≈ CTP UTP ≈ ITP ; în funcție de natura ionului metalic, ordinea este Mn(II) > Co(II) > > Mg(II) > Ca(II). În cazul complecșilor Fe(III) cu trifosfatnucleozidele, valorile diferitelor constante de stabilitate, deși mai diferite, nu prezintă diferențe semnificative.

În cazul complecșilor metalici ai nucleotidelor numărul grupărilor fosfat determină gradul de interacțiune cu ionul metalic. Cu toate acestea pentru unii ioni ai metalelor grele există interacțiuni preferențiale dependente de porțiunile bazelor purinice și pirimidinice. Astfel, interacțiunile guanozinei și inozinei cu ioni ai metalelor grele, par a fi superioare, comparativ cu celelalte nucleotide. Legarea Cu(II) de nucleozide urmează seria : inozină > guanozină ; dezoxiguanozină ≫ citidină ; dezoxicitidina nu este afectată de natura pentozei (riboză, dezoxiriboză). În cazul nucleotidelor, ordinea de stabilitate a complexului Cu(II) este : IMP > GMP > CMP > AMP.

Constantele de stabilitate ale ionilor metalelor alcaline cu nucleotide cresc cu creșterea lui Z de la Li^+ la Cs^+.

Constantele legăturilor ($\log K_{MeL}^{Me}$) ale Hg(II) cu nucleozidul variază de la ~3 la ~9, în funcție de natura nucleozidului, poziția legăturii și pH. Cu(II), Hg(II) și Ag(I) și alți ioni ai metalelor grele prezintă, de obicei, preferințe față de grupările bazice și cele ceto ale bazelor purinice și pirimidinice, în timp ce ionii metalelor ușoare favorizează coordinarea la grupările fosfat ale nucleotidelor.

Determinarea unor funcții termodinamice, energia liberă standard: ($\Delta G°$), entalpia ($\Delta H°$) și a entropiei ($\Delta S°$) au dus la unele informații importante cu privire la interacțiunea ioni metalici — nucleotide.

Determinarea directă (microcalorimetric) arată că această funcție termodinamică crește proporțional cu numărul grupărilor fosfat (ATP > > ADP > AMP).

Adenin nucleozidele și nucleotidele și reacțiile lor cu ionii metalici au fost pînă acum mai intens studiate decît nucleozidele și nucleotidele guaninei, inozinei, citosinei, uracilului și timinei.

Studiile asupra structurii complecșilor metalici ai altor nucleotide și nucleozide au fost recent intensificate.

1.5. Complecși ai polinucleotidelor și acizilor nucleici

1.5.1. Generalități

Acizii nucleici sînt polinucleotide macromoleculare în care nucleotidele componente sînt legate prin intermediul acidului fosforic de la C (3′) al unei pentoze cu C (5′) al celei următoare (fig. 1.2).

Watson și Crick au arătat că molecula acidului desoxiribonucleic care reprezintă elementul genetic caracteristic al cromozomilor este formată din două lanțuri polinucleotidice lungi, răsucite în spirală în jurul unei axe de simetrie comune formînd un sistem dublu helicoidal (fig. 1.3), în care bazele azotate, legate între ele prin punți de hidrogen, conferă moleculei stabilitate. Din punct de vedere energetic și structural sînt favorizate numai legăturile adeninei cu timina și a guaninei cu citozina, comportare care determină ca raportul A/T și G/C să fie egal cu unitatea. Adenina și timina sînt unite între ele prin două legături de hidrogen, între gruparea ceto și amino, respectiv a timinei, a adeninei și hidrogenul de la N_3 al timinei și N_1 al adeninei.

Între guanină și citozină se stabilesc trei legături de hidrogen: una între gruparea amino a citozinei și gruparea ceto a guaninei, a doua între N_3 al citozinei și N_1 al guaninei și a treia între gruparea ceto a citozinei și gruparea amino a guaninei (I.XXIV). O spiră este formată

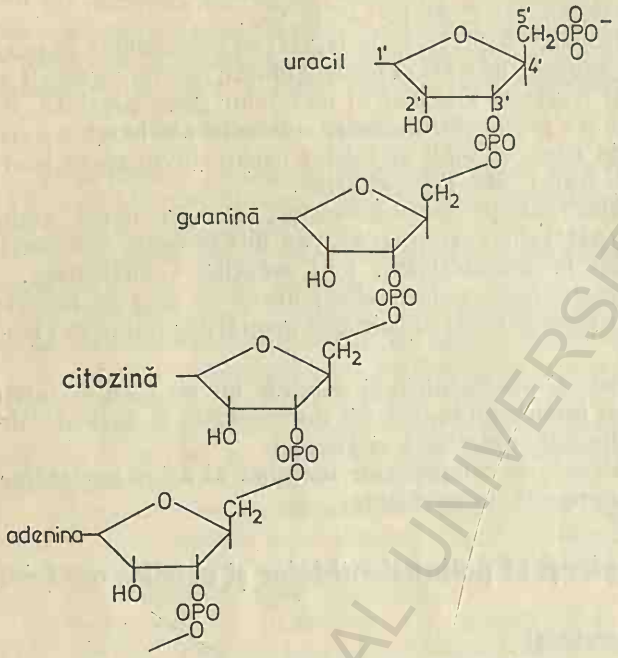


Fig. 1.2. — Structura primară a ARN, [76]

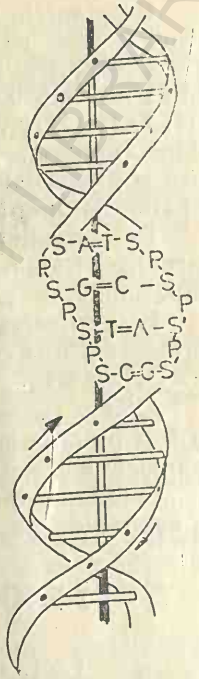
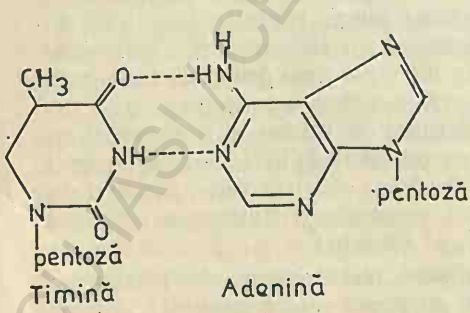
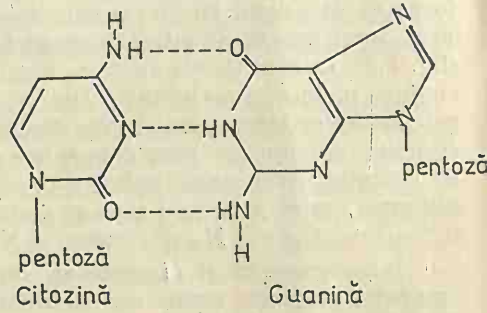


Fig. 1.3. — Structura schematică a ADN-ului, [315]





(1-XXIV.)

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

din 10 nucleotide, are o înălțime de 34 Å, iar cele două baze azotate învecinate se găsesc la o distanță de 3,4 Å.

Datorită legăturilor de hidrogen dintre A—T și G—C, secvența nucleotidelor din lanțul polinucleotidic determină aranjarea complementară a mononucleotidelor în lanțul pereche.

Între cele două lanțuri polinucleotidice complementare, pe lîngă legăturile de hidrogen se pot stabili legături Van der Waals, forțe hidrofobe, legături dipol-dipol etc, care contribuie la stabilizarea sistemului.

Succesiunea (secvența) nucleotidelor determină în ADN codul genetic care asigură păstrarea, transmiterea și exprimarea caracterelor ereditare.

Prin încălzirea moleculei ADN în ser fiziologic la 70—80°C spirala dublă se desface în lanțuri izolate. Dacă soluția este răcită, se refac parțial structura de dublu helix; dacă răcirea se face brusc, lanțurile rămîn despărțite, „înghețate". Soluțiile cu lanțuri polinucleotidice izolate au spectre de absorbție în UV mai ridicate decît cele cu structura de dublu helix, deoarece bazele azotate nu sînt mascate de legăturile de hidrogen.

Acizii ribonucleici (ARN) au o structură asemănătoare acizilor dezoxiribonucleici, fiind formați din numeroase nucleozide, unite prin intermediul acidului fosforic. Moleculele lor conțin adenină și guanină, citozină și uracil, riboză și acid fosforic. Ei se deosebesc de acizii dezoxiribonucleici printr-o bază pirimidinică (uracil sau timină).

Sub aspectul structurii primare (fig. 1.2) acizii ribonucleici sînt formați dintr-un singur lanț ribonucleotidic care se pliază. Raportul între A—U și G—C nu este egal cu 1, deoarece nu conține cel de al doilea lanț complementar.

Sub aspect structural și funcțional se cunosc trei tipuri de acizi ribonucleici *ARN-mesager* (m-ARN) sau *de informație* (i-ARN), *ARN-ribozomial* (r-ARN) și *ARN-solubil* sau *de transport* (s-ARN), respectiv (t-ARN). Formarea moleculelor de ARN este un proces enzimatic care are loc în trei etape (76).

În cazul ADN, desfășurarea în lanțuri separate cu formarea unor lanțuri complementare, pentru fiecare din lanțurile originale, duce la producerea a două noi helixuri duble de ADN, fiecare fiind o copie a originalului.

Acest proces de copiere necesită prezența ionilor metalici și poate de asemenea fi zădărnicit de ionii metalici, ilustrînd astfel semnificația complexării acestora în biochimia acizilor nucleici.

Nu numai copierea ADN, dar și orice fază a utilizării codului genetic pentru producerea eventuală a proteinelor specificate de cod este guvernată într-un sens de prezența ionilor metalici.

ADN-ul în nucleul celulei servește pentru formarea ARN-ului mesager (m-ARN) care transportă mesajul genetic în citoplasmă. Această transcriere a ADN la m-ARN este de asemenea influențată de ionii metalici.

Codul genetic în ARN este conținut în secvențele de trinucleotide, numite *codoni*; fiecare codon codifică un aminoacid specific. Codonii sînt „recunoscuți" de anticodoni, secvențele de trinucleotide în ARN-ul de transfer (t-ARN) ce conține bazele ce sînt complementare celor din codon. Legarea t-ARN anticodon la m-ARN codon are loc pe suprafața ribozomilor a căror structură este determinată de constituenți — ioni metal (fig. 1.4).

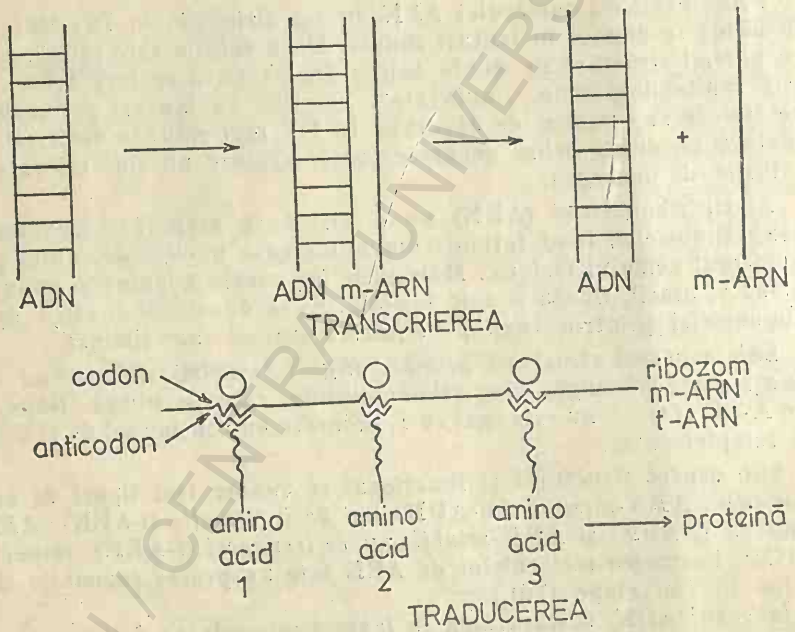


Fig. 1.4. — Reprezentarea schematică a utilizării codului ADN-ului în sinteza proteinelor, [76]

1.5.2. Ionii metalici și replicarea ADN-ului

Mecanismul de replicare a moleculei de ADN în celula vie, este insuficient elucidat. El este catalizat de enzima ADN polimerază I (de ex. la E. coli), care este capabilă să sintetizeze noi molecule ADN cu secvență nucleotidică a ARN-ului existent.

BCU IAȘI / CENTRU UNIVERSITAR

Reacția ADN polimerazei necesită în afară de „placa turnantă" ADN, cei patru trifosfați deoxinucleotidici d-ATP, d-CTP, d-GTP și d-TTP cît și prezența unor ioni metalici bivalenți, mai ales a Mg(II).

Reacția include scindarea pirofosfatului din trifosfat și formarea legăturilor fosfat-diester între deoxinucleotidele adiacente.

Există cîteva aspecte curioase ale participării ionilor metalici la aceste transformări. Astfel, ionii Mn(II) pot înlocui ionii Mg(II) în reacție, dar selectivitatea ei este modificată. Ionii Mg(II) permit încorporarea numai a deoxiribonucleotidelor în ADN, pe cînd ionii de Mn(II) permit încorporarea atît a deoxinucleotidelor cît și a ribonucleotidelor. Mecanismul prin care ionul metalic poate produce o astfel de selectivitate sau prin care ea se poate evita, nu este cunoscut. Funcția ionilor de Mg(II) în această reacție de polimerizare pare să fie, de legarea deoxinucleotidtrifosfatului de enzimă.

ADN-polimeraza conține aparent și doi ioni de Zn(II) legați strîns de molecula de enzimă. Ionii de Zn(II) par să aibă o funcție diferită de cea a ionilor de Mg(II), de legare a ADN, mai degrabă decît a nucleotidelor de enzimă.

Weser (341) indică nucleul, unde concentrația Zn(II) este maximă, ca sediu de localizare majoră a activității Zn(II). Există date după care ionii de Mg(II) sînt mai eficienți în încorporarea purin-nucleotidelor, iar ionul de Co(II) pentru pirimidin nucleotide. Într-un sistem izolat din embrionul de pui, pentru încorporarea ribonucleotidelor în ADN, s-a constatat că ionul de Mg(II) exercită un control al sintezei ADN

1.5.3. Ionii metalici și transcrierea

Copierea codului ADN în forma poliribonucleotidei ca m-ARN se realizează de enzimele ARN-polimeraze care au fost izolate din diferite surse bacteriene ca E. coli și M. lysodeicticus, precum și din celule de mamifere. Aceste polimeraze necesită ADN ca placă turnantă, ribonucleotidtrifosfați (ATP, CTP, GTP și UTP) și ioni metalici ca : Mg^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}.

Ionul de Mg(II) s-a dovedit foarte selectiv cu enzima din M. lysodeicticus, pentru substrat, asigurîndu-se încorporarea ribonucleotidelor în locul deoxinucleotidelor. Ionii de Mg(II) produc încorporarea nucleotidei corespunzătoare atît în sinteza ADN cît și în cea a ARN. Mn(II), poate promova cantitativ reacția, dar poate determina incorporarea eronată a deoxinucleotidelor, alături de ribonucleotide. Cauza acestei comportări anormale se datorește tendinței diferite de coordinare a Mn(II), comparativ cu Mg(II), care se limitează la legarea fosfatului.

Modul în care acești ioni metalici influențează polimerizarea este puțin cunoscut, dar ei sînt necesari atît pentru inițierea reacției cît și

ADN-ul în nucleul celulei servește pentru formarea ARN-ului mesager (m-ARN) care transportă mesajul genetic în citoplasmă. Această transcriere a ADN la m-ARN este de asemenea influențată de ionii metalici.

Codul genetic în ARN este conținut în secvențele de trinucleotide, numite *codoni*; fiecare codon codifică un aminoacid specific. Codonii sînt „recunoscuți" de anticodoni, secvențele de trinucleotide în ARN-ul de transfer (t-ARN) ce conține bazele ce sînt complementare celor din codon. Legarea t-ARN anticodon la m-ARN codon are loc pe suprafața ribozomilor a căror structură este determinată de constituenți — ioni metal (fig. 1.4).

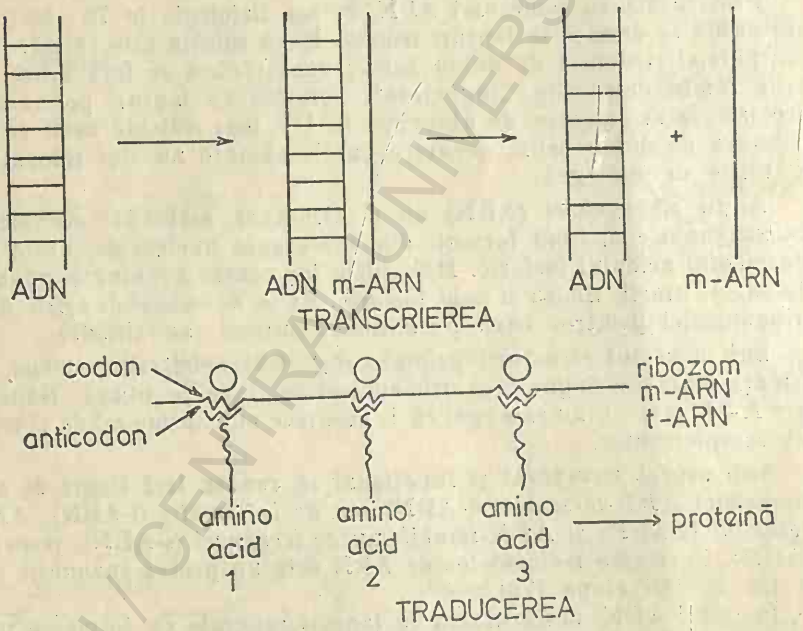


Fig. 1.4. — Reprezentarea schematică a utilizării codului ADN-ului în sinteza proteinelor, [76]

1.5.2. Ionii metalici și replicarea ADN-ului

Mecanismul de replicare a moleculei de ADN în celula vie, este insuficient elucidat. El este catalizat de enzima ADN polimerază I (de ex. la E. coli), care este capabilă să sintetizeze noi molecule ADN cu secvență nucleotidică a ARN-ului existent.

Reacția ADN polimerazei necesită în afară de „placa turnantă" ADN, cei patru trifosfați deoxinucleotidici d-ATP, d-CTP, d-GTP și d-TTP cît și prezența unor ioni metalici bivalenți, mai ales a Mg(II).

Reacția include scindarea pirofosfatului din trifosfat și formarea legăturilor fosfat-diester între deoxinucleotidele adiacente.

Există cîteva aspecte curioase ale participării ionilor metalici la aceste transformări. Astfel, ionii Mn(II) pot înlocui ionii Mg(II) în reacție, dar selectivitatea ei este modificată. Ionii Mg(II) permit încorporarea numai a deoxiribonucleotidelor în ADN, pe cînd ionii de Mn(II) permit încorporarea atît a deoxinucleotidelor cît și a ribonucleotidelor. Mecanismul prin care ionul metalic poate produce o astfel de selectivitate sau prin care ea se poate evita, nu este cunoscut. Funcția ionilor de Mg(II) în această reacție de polimerizare pare să fie, de legarea deoxinucleotidtrifosfatului de enzimă.

ADN-polimeraza conține aparent și doi ioni de Zn(II) legați strîns de molecula de enzimă. Ionii de Zn(II) par să aibă o funcție diferită de cea a ionilor de Mg(II), de legare a ADN, mai degrabă decît a nucleotidelor de enzimă.

Weser (341) indică nucleul, unde concentrația Zn(II) este maximă, ca sediu de localizare majoră a activității Zn(II). Există date după care ionii de Mg(II) sînt mai eficienți în încorporarea purin-nucleotidelor, iar ionul de Co(II) pentru pirimidin nucleotide. Într-un sistem izolat din embrionul de pui, pentru încorporarea ribonucleotidelor în ADN, s-a constatat că ionul de Mg(II) exercită un control al sintezei ADN

1.5.3. Ionii metalici și transcrierea

Copierea codului ADN în forma poliribonucleotidei ca m-ARN se realizează de enzimele ARN-polimeraze care au fost izolate din diferite surse bacteriene ca E. coli și M. lysodeicticus, precum și din celule de mamifere. Aceste polimeraze necesită ADN ca placă turnantă, ribonucleotidtrifosfați (ATP, CTP, GTP și UTP) și ioni metalici ca : Mg^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}.

Ionul de Mg(II) s-a dovedit foarte selectiv cu enzima din M. lysodeicticus, pentru substrat, asigurîndu-se încorporarea ribonucleotidelor în locul deoxinucleotidelor. Ionii de Mg(II) produc încorporarea nucleotidei corespunzătoare atît în sinteza ADN cît și în cea a ARN. Mn(II), poate promova cantitativ reacția, dar poate determina incorporarea eronată a deoxinucleotidelor, alături de ribonucleotide. Cauza acestei comportări anormale se datorește tendinței diferite de coordinare a Mn(II), comparativ cu Mg(II), care se limitează la legarea fosfatului.

Modul în care acești ioni metalici influențează polimerizarea este puțin cunoscut, dar ei sînt necesari atît pentru inițierea reacției cît și

pentru propagarea polimerizării. Ionii metalici stimulează inițierea reacției, afectînd organizarea subunităților din care este compusă enzima. În afară de ionii Mg(II) și Mn(II) a mai fost folosit ca activator pentru ARN polimerază și Co(II); ceilalți ioni metalici nu prezintă această capacitate.

Majoritatea lucrărilor cu ARN polimerază și efectele produse de ionii metalici asupra acesteia, au fost făcute folosind enzime bacteriene și mai puțin ARN — polimerază umană.

Studii referitoare la activitatea ARN-polimerazei în diferite fracțiuni ale ficatului, în prezența ionilor de Mg(II) și Mn(II) ca activatori, au arătat că există cel puțin două polimeraze afectate de prezența ionilor metalici. Astfel, fracțiunea activată cu Mg(II) este inhibată de Cu(II), Cd(II) și Co(II), dar nu și de către Zn(II).

Fracțiunea activată cu Mn(II) este inhibată de Hg(II), Cd(II) și Cu(II), dar nu și de ionii de Zn(II).

Șobolanii cu deficiență de ioni de Cu(II) prezintă o scădere a capacității lor de sinteze proteice, ce poate fi atribuită unei descreșteri a formării ARN. Deficiența ionilor de Fe(II) nu produce o descreștere similară.

1.5.4. Ionii metalici și traducerea

Prezența ionilor metalici bivalenți determină numărul aminoacizilor ce pot fi încorporați în proteine, sub acțiunea unui codon determinat, avînd astfel un rol important în procesul de traducere.

Un fenomen de codificare greșită s-a observat la folosirea copolimerului poli (U—G), care conține alternativ G și U. În prezența a 1×10^{-2}M. Mg^{2+}, polipeptida conține valină și cisteină, așa cum indică cifrele de cod GUG și UGU pentru acești aminoacizi. La 2×10^{-2} M ionul de Mg^{2+}, valina este în mare măsură substituită cu tirozină care are un codon UAU. Crick postulează că „degenerarea" codului se datorește citirii ambivalente a celei de a treia litere în codon. Erorile induse de ionul de Mg(II) par să indice că la concentrații mai mari de ioni de Mg(II), literele codului pot fi citite greșit. Natura și concentrația ionilor metalici pot determina ca replică, transcrierea și traducerea să aibă loc greșit. Mecanismul prin care ionii metalici produc aceste efecte este încă puțin lămurit, totuși se poate presupune că ar fi legat de capacitatea ionilor metalici de a interacționa cu un număr mai mare de donori de electroni existenți în aceste molecule (fosfați, baze precum și hidroxilii ribozei).

1.5.5. Stabilitatea complecșilor metalici ai polinucleotidelor și legătura Me(II) — nucleotid

Determinarea constantei de stabilitate a complexului Cu(II) — ADN indică o stabilitate de ordinul de mărime 10^4, care situează complexul între cel al Cu(II) — AMP și Cu(II) — ADP.

Constanta de stabilitate a complexului Mg(II)—ADN este de 2.10^5 iar a complexului Mn(II)—ADN are același ordin de mărime cu cea a complexului Cu(II)—ADN.

Natura legăturii dintre Cu(II) și ADN prezintă interes deoarece Cu(II) determină înfășurarea și desfășurarea ADN.

Studii spectrale în IR și RES sugerează o coordinare, în primul rînd la regiunile ADN mai bogate în G,C. Spectrele de absorbție în vizibil indică legarea prin intermediul guaninei. Mai mulți autori indică legarea Cu(II) de baza ADN inițial, în stare neînfășurată. Ionul de Cu(II) nu influențează spectrul ADN la temperatura camerei, dar perturbă spectrul UV al heterociclurilor din ADN la temperatură ridicată, ceea ce denotă capacitatea ionilor de Cu(II) de a promova desfășurarea ADN la temperatura ridicată.

Ionii de Cu(II) pot reacționa cu ADN baza, chiar la temperatura camerei, dacă reacția se lasă să aibă loc în timp, sau dacă ADN-ul este supus filtrării pe gel de Sephadex.

Ionii de Ag(I) și Hg(II) au afinități foarte diferite față de polinucleotide și față de monomeri, comparativ cu ionii Cu(II). Astfel Ag(II) și Cu(II) preferă regiunea G.C. a ADN-ului, în timp ce Hg(II) se leagă selectiv de A.T. datorită afinității avansate pentru timină, care este legată mai slab de Cu(II) și mai puternic de Hg(II).

Studii de RMN, indică legarea fosfatului de Mn(II) și Co(II) în ARN și Mn(II), Co(II), Ni(II) și Fe(II) în ADN.

În ceea ce privește legarea ionului de Mg(II) la baze sau la gruparea fosfat, în ADN, precum și în alte polinucleotide, există date care atestă numai legarea la centrii fosfat.

1.5.6. Efectul ionilor metalici asupra stabilizării ADN

Capacitatea ionilor metalici de a stabiliza elicea dublă a ADN a fost descoperită de către Shack și colab. (308) și elucidată de Dove și Davidson (70). Ei au constatat că, Tm „temperatura de topire" sau temperatura la care are loc duplicarea ADN în catene simple crește linear cu logaritmul tăriei ionice.

Stabilizarea de către ionii metalici a ADN dublu helicoidal poate fi explicată prin aceea că grupările fosfat, avînd sarcină negativă, în elicea dublă, legate de nucleotidele adiacente, se resping, ducînd astfel la creșterea elicei duble, deci la desfășurare. Neutralizarea grupărilor

fosfat de către cationi împiedică duplicarea ionului. Ionii bivalenți ca : Mg^{2+}, Co^{2+} sînt mai eficienți decît cei monovalenți.

Fenomenul de stabilizare a ADN de către ionii metalici nu este caracteristic și universal. Ionii de Mg(II) cresc „temperatura de topire" datorită stabilizării. În prezența Mg^{2+} ca stabilizant, este necesară o energie suplimentară pentru a distruge elicea. Ionii de Cu(II) descresc „temperatura de topire", ceea ce denotă caracterul lor de destabilizare al ADN-ului. Modul de comportare a ionilor de Mg(II) și Cu(II) poate fi explicat prin diferențele între tendințele de legare. Mg^{2+} legîndu-se de fosfat stabilizează structura ordonată prin efectul contra ion. Ionii de Cu(II) care se leagă la fosfat și la bază, intră în competiție cu legătura de hidrogen a elicei duble pe care o destabilizează. Ionii de Cu(II) realizează deplierea ADN numai la tării ionice mici. Concentrații mai mari de electrolit stabilizează elicea dublă a ADN-ului în așa măsură, încît ionii de cupru nu mai pot să contracareze stabilizarea, deci există o competiție între formarea legăturii de hidrogen și legarea ionilor de Cu(II). Efectul competitiv duce la obținerea unei replieri sau deplieri reversibile a ADN-ului.

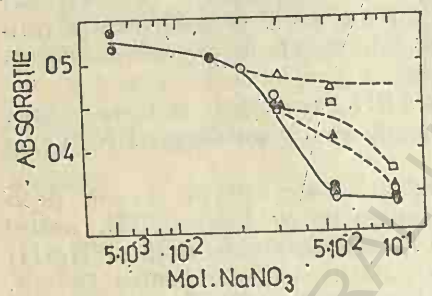


Fig. 1.5. — Influența Cu (II) asupra deplierii ADN-ului la tării ionice diferite, [76]

Dacă soluția de Cu(II)—ADN este încălzită pînă la deplierea ADN, apoi ea se răcește și i se adaugă electrolitul solid, se regenerează elicea dublă (fig. 1.5) (76).

Încălzirea ADN în absența ionilor de Cu(II) are ca rezultat disocierea lanțurilor simple în soluție, fără ca bazele complementare să fie capabile să se reunească și să formeze elicea dublă.

Capacitatea de a reforma ADN-ul este atribuită ionilor de Cu(II) care formează legături intercatenare între lanțurile de ADN ; sînt necesare numai cîteva astfel de legături pentru a menține lanțurile simple în imediata vecinătate.

Echilibrul între ADN-ul denaturat în prezența Cu(II) și elicea dublă depinde de concentrația electrolitului adăugat. Reprezentînd absorbanța în funcție de concentrația electrolitului, curba în formă de S descrie tranziția de la ADN cu catenă simplă, la cel cu lanț dublu. Concentrații intermediare de electrolit duc la amestecuri de specii simple și dublu înfășurate. Punctul mediu în tranziția dependentă de electrolit, a fost numit „c o n c e n t r a ț i e d e c o a g u l a r e" (C_f); el este analog cu punctul mediu de tranziție al ADN dublu înfășurat la ADN simplu, prin încălzire, numit „t e m p e r a t u r ă d e t o p i r e" (T_m).

Fenomenul de depliere și repliere reversibilă a ADN-ului se întîlnește și la ionii Zn(II). Astfel, la încălzirea ADN-ului cu ionii de Zn(II) reînfășurarea are loc prin răcire. Încălzirea și răcirea repetată a soluțiilor Zn(II)—ADN au întotdeauna drept rezultat, desfășurarea prin încălzire și reînfășurarea prin răcire. Diferența dintre condițiile în care acționează cei doi ioni pentru reînfășurarea ADN, Cu(II) la rece și în prezență de electrolit, iar Zn(II) numai răcirea (fig. 1.6) se poate explica prin afinitățile relative pe care le au acești doi ioni metalici pentru bazele nucleotidice. Zincul (II) se leagă mai slab la aceste baze și probabil din această cauză poate fi îndepărtat în mod simplu prin răcirea soluțiilor. Cuprul (II) este mai puternic legat și nu este deplasat prin răcirea soluției, decît la creșterea în concentrație a electrolitului.

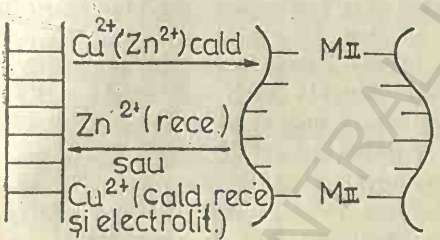


Fig. 1.6. — Deplierea și replierea reversibilă a ADN în prezența ionilor metalici, [76]

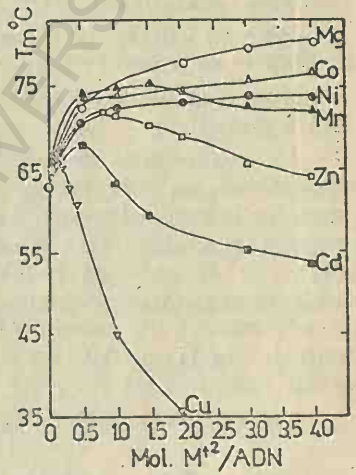


Fig. 1.7. — Variația Tm. a soluțiilor de ADN în funcție de concentrația ionilor metalici Me^{2+}, [76]

Comparînd efectul exercitat de ioni ai metalelor tranziționale și ionul de Mg(II) în funcție de concentrație asupra T_m al ADN (fig. 1.7) s-a constatat că numai ionii de Mg(II) continuă să crească T_m al ADN, odată cu mărirea concentrației ionilor de Mg^{2+}. Acest efect este în concordanță cu tendința ionilor de Mg^{2+} de a se lega de fosfat și de lipsa dovezilor pentru legarea lor de baze.

Ionii de Co^{2+} și Ni^{2+} se aseamănă din acest punct de vedere cu Mg^{2+}, de obicei ei determină o creștere mai mică a T_m față de Mg^{2+}, cu mărirea concentrației lor. Ionii de Mn^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+} și Cu^{2+} produc o

creștere a T_m la mărirea inițială a concentrațiilor ionilor metalici; după atingerea unui T_m maxim, concentrațiile superioare de ioni metalici duc la descreșterea T_m (fig. 1.7).

Toți acești ioni metalici stabilizează ADN la concentrații mici prin legare la fosfat; această stabilizare este contracarată de ruperea legăturilor de hidrogen. „Temperatura de topire" poate fi considerată un indice al afinității relative al ionilor metalici față de ADN. Din acest punct de vedere ei pot fi clasificați în ordinea : Mg(II)> Co(II)> Ni(II)> > Mn(II)> Zn(II)> Cd(II)> Cu(II) care a fost corelată cu efectul exercitat de ei asupra replierii ADN depliat în prezența ionilor (77).

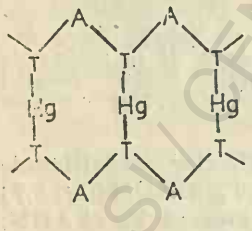
Procesul de reînfășurare al ADN-ului nu are loc în prezența Mg(II) și este redus în prezența Co(II) și Ni(II); prezența Mn(II) duce la reînfășurarea majorității ADN.

Ionii de Zn(II), la răcire produc reînfășurarea totală a ADN-ului, în timp ce în prezența ionilor de Cd(II) și Cu(II) fenomenul nu are loc.

Nu există nici o dovadă asupra unei comportări analoage a acestor ioni metalici.

În ceea ce privește afinitatea Hg(II) și Ag(I) la legarea bazelor nucleotidice, ea este cunoscută, dar nu există dovezi privitoare la legarea lor la anionul fosfat. Ar fi de așteptat deci ca aceștia să fie foarte eficienți în reînfășurarea și desfășurarea ADN. Ionii de Hg(II) și Ag(I) leagă atît de puternic bazele, încît, în loc de desfășurarea lanțurilor duble, în cantități stoechiometrice, se interpolează între lanțuri, astfel că se formează un complex foarte rigid Hg(II) ADN sau Ag(I) ADN. Ionii de Hg(II) și Ag(I) pot fi îndepărtați numai prin competiție cu agenți complexanți (Cl^-, Br^-, CN^-) regenerînd ADN nativ.

Reacția reversibilă a Hg(II) sau Ag(I) cu ADN nu poate fi considerată ca o înfășurare sau desfășurare a ADN-ului; complecșii formați pot fi considerați ca elice duble cu diametrul crescut față de diametrul ionilor metalici, precum și față de cel al elicei duble a ADN necomplexat.



(1.XXV)

Hg(II) deplasează cu 11 nm spectrul UV al ADN-ului comparativ cu 4 nm produs de Cu(II), ceea ce indică o perturbare mult mai intensă a structurii electronice a heterociclurilor datorită ionului de Hg(II). De asemenea, dispersia rotatorie a ADN-ului este mult mai puternic afectată de prezența ionilor Hg(II) comparativ cu cei ai Cu(II).

Yamane și Davidson (353) au arătat că afinitatea ADN pentru Hg(II) crește cu conținutul adeninei (A) și timidinei (T), complexul cel mai puternic format este cel dintre mercur și poli-dAdT.

După Katz, structura probabilă a complexului poli dAdT—Hg(II) este indicată în (1.XXV); ionii de Hg(II) sînt asociați exclusiv cu timina (159). Argintul (I) reacționează mai intens cu ADN-ul bogat în guanină (G) și citozină (C).

1.5.7. Efectul ionilor metalici asupra ARN

Conformațiile ordonate ale ARN sînt stabilizate de ionii metalici în același mod ca și elicea dublă a ADN-ului.

Structura stabilizată a t-ARN cu ajutorul ionilor metalici, în mod analog cu elicea dublă a ADN-ului, indică prezența mai multor regiuni legate cu punți de hidrogen.

Ionii metalici sînt esențiali în convertirea unei forme inactive de t-ARN la o formă activă; dovezile arată că ionii metalici sînt legați de centrii specifici pe t-ARN.

Nu se cunoaște exact în ce mod ionii metalici produc t-ARN activ, dar probabil că ei sînt necesari atît pentru centrii specifici de stabilizare, cît și ca efect de contra ion al structurii ordonate.

Felsenfeld și Rich (87) au demonstrat importanța ionilor metalici în determinarea tipului de elice multiplă, care se produce. De asemenea, s-a demonstrat și modul în care diferiți ioni metalici pot stabiliza diferitele forme de polinucleotide, în condiții identice.

Studiul dispersiei optice rotatorie (DRO) a acidului poliriboadenilic (poli rA) (fig. 1.8) la pH=6, indică (58):

— stabilitatea moleculei în configurația dublu elicoidală, în absența ionilor metalici bivalenți;

— elicea dublă este numai parțial transformată la elice simplă în prezența Zn(II);

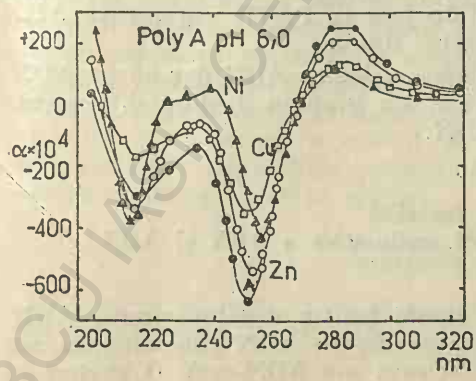


Fig. 1.8. — Dispersia optică rotatorie a acidului poliriboadenilic în absența ionilor metalici bivalenți și în prezența Zn (II), Ni (II) și Cu (I)I, [76]

— prezența Ni(II) produce o curbă DRO caracteristică unei elice simplu înfășurate ;

— prezența Cu(II) duce la formarea unei elice simple, încolăcită la întîmplare, fenomen care atestă destabilizarea structurilor ordonate de către ionii metalici.

ARN-ul și ADN-ul nu prezintă comportări similare în toate reacțiile lor cu ionii metalici. Reacția care are loc exclusiv cu ARN-ul este depolimerizarea structurilor polinucleotidice prin scindarea legăturilor diesterfosforice.

Pentru degradarea ARN-ului au fost folosiți unii hidroxizi metalici, cînd au fost obținute nucleotide sau nucleozide. Astfel, $Cd(OH)_2$ și $Zn(OH)_2$ produc nucleotide, iar $Pb(OH)_2$ nucleozide ; $Bi(OH)_3$ și $Al(OH)_3$ duc la dinucleotid-fosfați.

Viteza de degradare a polinucleotidelor variază apreciabil cu natura ionilor metalici ; viteza de degradare cu Zn(II) este cu mult mai mare decît cu alți ioni metalici.

Compararea vitezelor de degradare a ARN poli rA, poli rC, poli rU și poli rI cu Zn(II) arată că vitezele variază condsiderabil mai ales la degradarea poli rI. Este deci evident, că scindarea legăturilor fosfodiester ale catenei polinucleotidice este influențată de natura bazelor din catenă, iar ionii metalici pot face deosebire dintre legăturile fosfodiester în diferitele homopoliribonucleotide.

În ceea ce privește posibilitatea ca ionii metalici să diferențieze legăturile fosfo-diester într-un heteropolinucleotid de tip ARN, în care diferitele baze sînt legate de același schelet heteroribozofosfat, date recente demonstrează că ionii metalici favorizează scindarea legăturilor fosfodiester adiacente la uracil și în anumite condiții citozina, tinzînd să nu atace legăturile ce se învecinează cu guanina.

Alți ioni, ca de exemplu Pb(II), degradează homopolinucleotidele în ordinea poliA> poli U> poli I> poli C. Pb(II) degradează ARN mai repede decît orice ion metalic studiat.

Faptul că reacția de degradare are loc cu ARN dar nu cu ADN, a dus la presupunerea cointeresării și a grupării 2 hidroxil, prezentă în ARN, dar inexistentă în ADN.

1.5.8. Efectul ionilor metalici asupra degradării enzimatice a ARN și ADN

Ionii metalici sînt eficienți numai pentru depolimerizarea ARN. Există enzime ce depolimerizează specific fie ARN (ribonucleaza sau ARN-aza), fie ADN (dezoxiribonucleaza sau ADN-aza). O enzimă ce

degradează ADN-ul și care a fost cercetată cu mare atenție este ADN-aza I, izolată din pancreasul de bou. Pentru activitatea ei, această enzimă necesită ioni metalici. Ea este activată de un mare număr de ioni metalici, dar Mg(II) și Mn(II) sînt activatorii cei mai des folosiți ; acțiunea activatoare a Co(II) este superioară.

Mecanismul de degradare al ADN cu ADN-ază I poate fi complet diferit în prezența diferiților ioni metalici. Astfel, Mg(II) diferă de Mn(II), atît în ceea ce privește mecanismul de acțiune asupra ADN-azei I, cît și în ceea ce privește selectivitatea față de legăturile fosfodiester.

Prin compararea efectelor acestor ioni asupra ADN și ARN-polimerazei, s-a constatat că reacția este mai puțin selectivă în prezența ionilor Mn(II), comparativ cu cei ai Mg(II). Creșterea specificității ADN-azei a fost posibilă, utilizînd ioni de Cu(II) ca ion de metal activant.

Scindarea ARN cu ribonuclează nu necesită ioni metalici pentru activitatea ei; totuși, ionii metalici la concentrații corespunzătoare sînt activatori eficace ai ribonucleazei (fig. 1.9.). Ionii metalici cu capacitate de coordinare superioară ating capacitatea optimă de activare la concentrație mică, în timp ce ionii metalici cu tendință inferioară de coordinare, acționează ca activatori numai la concentrații mai mari. Așezînd ionii în ordinea concentrației necesare pentru activarea maximă, se obține seria : Mn(II) > Co(II) > Ni(II) < Zn(II) opusă serici stabilității Irving-Williams. Formele curbelor pot fi explicate prin faptul că ionii metalici ce se leagă mai puternic se coordinează nu numai la centrii de activare, ci și la centrii inhibitori. Centrii activatori sînt probabil gruparea fosfat din ADN în timp ce centrii inhibitori pot fi pe enzimă.

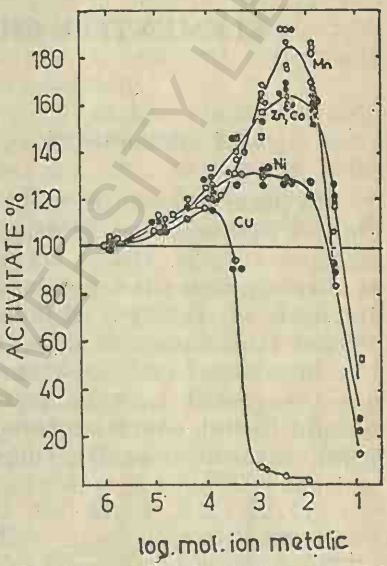


Fig. 1.9. Efectul ionilor metalici tranziționali asupra activității ribonucleazei, [80]

BIBLIOGRAFIE

3, 21, 32, 53, 70, 76, 77, 78, 87, 93, 104, 108, 159, 200, 208, 238, 250, 252, 301, 302, 303, 308, 311, 315, 341, 342, 353.

2

ELEMENTELE CHIMICE ŞI ORGANISMELE VII

2.1. Generalităţi

În decursul evoluţiei vieţii, natura a selectat din totalul elementelor chimice existente aproximativ 52 de elemente care intră în compoziţia materiei vii (92). Dintre acestea numai 40—43 apar în mod constant în orice organism viu vegetal sau animal (328) şi sînt denumite *bioelemente* Implicate în mod *esenţial* în structura şi funcţionalitatea organismelor vii sînt însă numai 25 elemente (328).

În ordinea crescîndă a numărului lor de ordine, Z, ele sînt : hidrogenul, carbonul, azotul, oxigenul, fluorul, sodiul, magneziul, siliciul, fosforul, sulful, clorul, potasiul, calciul, vanadiul, cromul, manganul, fierul, cobaltul, nichelul, cuprul, zincul, seleniul, molibdenul, staniul şi iodul.

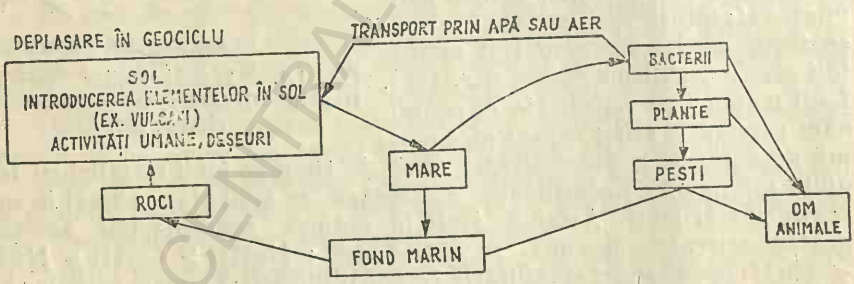


Fig. 2.1. — Mişcarea elementelor toxice în geociclu, [350]

În natură elementele urmează un anumit geociclu, fig. 2.1 care a fost şi este influenţat de activităţile umane. În epoca noastră, caracterizată printr-un proces de industrializare crescîndă, biosfera este din ce în ce mai contaminată de cei mai diverşi poluanţi şi supusă unei redistribuiri posibil nocive a sărurilor şi ionilor metalici, care pot intra, alături de substanţele toxice şi de poluanţi, în ciclurile biologice. Deplasarea elementelor toxice în societatea noastră în continuu proces de industrializare constituie o ameninţare pentru organismele vii şi este susceptibilă

să dezorganizeze echilibrul delicat pe care natura l-a stabilit pentru toate elementele.

Evoluția și adaptarea elementelor la nevoile organismelor vii a urmat schema : otravă — impurități tolerabile — elemente utile — elemente esențiale.

Ținînd seama de răspîndirea elementelor în scoarța terestră, elementele esențiale organismelor vii se încadrează între cele frecvent întîlnite, ceea ce înseamnă că selecția naturală, a înlăturat dependența organismelor vii, de elemente mai puțin accesibile.

Elementele disponibile pentru selecție sînt desigur limitate de compoziția scoarței terestre și a atmosferei. Se știe că sistemul nostru solar, ca întregul univers dealtfel, este format din 99% hidrogen și heliu. În scoarța terestră însă, hidrogenul constituie numai 0,22% din totalul elementelor, iar heliul este inexistent, cu excepția unor depozite mari, generate de roci radioactive.

Din totalul atomilor care formează scoarța terestră, opt elemente reprezintă mai mult de 98%; ele sînt: O_2 (47%), Si (28%), Al (7,9%), Fe (4,5%), Ca (3,5%), Na (2,5%), K (2,5%), și Mg (2,2%). Dintre acestea, numai 5 fac parte din cele 11 care constituie 99,9% din atomii organismului uman. Astfel, hidrogenul constituie 63%, oxigenul 25,5%, carbonul 9,5% și azotul 1,4%. Hidrogenul și oxigenul constituie deci 88,5% din totalul atomilor organismului uman. Celelalte 23 elemente, considerate vitale organismelor mamiferelor, reprezintă doar sub 0,7%.

Din cele 11 elemente (H, C, N, O, Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca) care constituie, așa cum am arătat 99,9% din atomii organismului uman, 9 (H, O, Cl, Na, Mg, S, Ca, K, C) sînt mai abundente în apa mărilor și oceanelor, așa cum se poate observa din tabelul 4.

Selectivitatea chimică a evoluției vieții poate fi demonstrată urmărind comparativ compoziția, în elemente, a corpului omenesc, cu cea a apei de mare, a scoarței terestre și a universului în totalitate. În tabelul 5 se poate urmări răspîndirea ionilor metalici în ape marine, sediment marin și în plasma extra și intracelulară.

Ionii de K^+, Na^+, Mg^{2+}, și Cl^- sînt predominanți, atît în apă de mare, cît și în organismele vii. Dintre ionii metalelor tranziționale cei de Fe^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+} sînt prezenți în concentrații mici, iar cei ai Co^{2+} și Ni^{2+} numai în urme.

Concentrația ionilor de K^+, Mg^{2+} și HPO_4^{2-} din plasmă, apă de mare și sedimentul marin este însemnată, în timp ce concentrația ionilor de clorură este ridicată în apă de mare și plasma extracelulară, comparativ cu sedimentul marin și plasma intracelulară.

Carbonul și fosforul, al treilea, respectiv al șaselea element ca abundență, componente ale organismului uman, apar rar în regnul mineral, concentrația lor în scoarța terestră este 0,087% respectiv 0,12%.

Tabelul 4

Elementele componente ale universului, scoarței terestre, ale apei de mare și ale organismului uman(343)

Compoziția universului		Compoziția scoarței terestre		Compoziția apei de mare		Compoziția corpului omenesc	
procente în număr				total de atomi			
H	91	O	47	H	66	H	63
He	9,1	Si	28	O	33	O	25,5
O	0,057	Al	7,9	Cl	0,33	C	9,5
N	0,042	Fe	4,5	Na	0,28	N	1,4
C	0,021	Ca	3,5	Mg	0,033	Ca	0,31
Si	0,003	Na	2,5	S	0,017	P	0,22
Ne	0,003	K	2,5	Ca	0,006	Cl	0,03
Mg	0,002	Mg	2,2	K	0,006	K	0,06
Fe	0,002	Ti	0,46	C	0,0014	S	0,05
S	0,001	H	0,22	Br	0,0005	Na	0,03
		C	0,19			Mg	0,01

Tabelul 5

Ioni metalici existenți în apa de mare (A), sediment marin (B), plasmă extracelulară (C) și intracelulară (D) (343)

Ion	Apă de mare mM (A)	Sediment mmol dizolvați în 1 l apă (B)	Plasmă		Raport	
			extracelulară mM (C)	intracelulară mmol/kg (D)	A/B	C/D
Na^+	470	290	138	<10	2 : 1	14 : 1
Mg^{2+}	50	480	1	20	1 : 10	1 : 20
Ca^{2+}	10	550	3	$\leqslant 0,1$	1 : 55	—
K^+	10	400	4	110	1 : 40	1 : 28
Cl^-	55	—	100	—	>100 : 1	>100 : 1
HPO_4^{2-}	0,001	20	1	100	1 : 20 000	1 : 100
SO_4^{2-}	28	40	1	5	1 : 2	1 : 5
Fe^{2+}	0,0001	550	0,02	10	1 : 5 500 000	1 : 500
Zn^{2+}	0,0001	1	0,02	1	1 : 10 000	1 : 50
Cu^{2+}	0,001	0,6	0,015	0,1	1 : 600	1 : 7
Co^{2+}	$10^{-5,5}$	$\leqslant 0,001$	0,002			
Ni^{2+}	10^{-6}	~ 0	~ 0			

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Dirijarea chimiei structurilor vii a fost influențată în largă măsură de : omniprezența apei, proprietățile chimice caracteristice ale carbonului comparativ cu cele ale siliciului, de raza și de sarcina atomilor.

Apa, solventul de bază al oricărei forme de viață pe planeta noastră, ocupă, așa cum se știe, 71% din suprafața totală a globului terestru și ~ 60% din greutatea corporală a adultului. Ea are o comportare cu totul diferită, unică pentru o moleculă cu o compoziție atît de simplă, caracterizată printr-o stabilitate termică deosebit de mare și valori ridicate ale unor constante fizice ca : d, p.t., p.f., constantă dielectrică, căldură specifică, căldură de vaporizare, proprietăți care explică folosirea ei atît de largă în cele mai diverse domenii. Dealtfel, utilitatea multor complecși esențiali pentru viață, se apreciază după comportarea lor față de apă : sînt sau nu solubili în apă, disociază sau nu în apă, îi măresc sau îi micșorează vîscozitatea etc.

A doua caracteristică este strîns legată de particularitățile chimice ale carbonului, selectat de către evoluția vieții, ca element central pentru formarea macromeleculelor din organism, comparativ cu chimia siliciului, de 146 ori mai abundent decît carbonul în scoarța terestră, selectat de către natură ca element de bază al regnului mineral.

Preferința pentru compușii carbonului față de cei ai siliciului pare a se datora atît stabilității deosebite a CO_2, oxid monomer, ușor solubil în apă cît și tendinței particulare a atomilor de carbon de a se uni între ei, prin legături covalente, formînd catene lineare, ramificate sau ciclice, stabile, dar reactive. Dealtfel stabilitatea moleculelor, alături de reactivitatea lor chimică însemnată, caracterizează în esență structurile vii, spre deosebire de compușii caracteristici lumii minerale, caracterizați printr-o stabilitate mult mai ridicată și o reactivitate inferioară.

Legăturile σ C—C cu d(C—C) = 1,54 Å, energia de legătură de 83,0 Kcal/mol, sînt foarte stabile, slab polarizabile, în timp ce legătura π>C = C< cu d(C = C) = 1,32 Å și o energie de legătură 64 Kcal/mol, este mai slabă și explică reactivitatea superioară a compușilor nesaturați, comparativ cu cei saturați.

Chimia siliciului, element care urmează după carbon în grupa a IV-a a sistemului periodic, este caracterizată tot prin formare de compuși covalenți. Atomii de siliciu se unesc între ei ca și cei de carbon și formează catene de dimensiuni uneori destul de mari. Energia legăturilor Si—Si, Si—H și Si—Cl (Br, I), este însă inferioară legăturilor analoage carbonului, fapt care explică reactivitatea mai mare și stabilitatea inferioară a silanilor, față de hidrocarburi, tendința inferioară a siliciului de a forma lanțuri și hidroliza ușoară a derivaților halogenați.

Avînd însă o electronegativitate inferioară, C (2,5), Si (1,8) manifestă o afinitate superioară față de oxigen și fluor, energia legăturilor Si—O și Si—F fiind superioară celei a legăturilor C—O și C—F, din

care cauză legătura Si—O, deosebit de stabilă (88,2 Kcal/mol), apare în toate combinaţiile naturale ale siliciului şi constituie o caracteristică în chimia acestui element. Din această cauză SiO_2, spre deosebire de CO_2, are o structură macromoleculară, bazată pe repetarea unor legături Si—O—Si, care fiind mult mai rigide, nu ar putea asigura metabolismul şi creşterea treptată a complexităţii moleculelor în procesul evoluţiei. Siliciul dispunînd de *OA* d, care participă la formarea legăturilor în diferiţii săi compuşi, nu formează legături π, cu hibridizare sp sau sp^2, caracteristici chimiei carbonului, ci numai legături σ, hibridizarea sp^3 fiind caracteristică acestui element (109).

Ţinînd seama de abundenţa sa în scoarţa terestră, fiind după oxigen cel mai răspîndit element care constituie baza regnului mineral, cît şi asemănările lui chimice cu carbonul, este greu de explicat eventuala excludere a siliciului de la un rol biochimic vital. Dealtfel, recent s-a arătat că siliciul este esenţial, într-un mod necunoscut încă, pentru dezvoltarea animalelor tinere şi a oaselor (p. 169). Astfel, după Carlisle, de la Universitatea din Los Angeles (1972), lipsa urmelor de siliciu din hrana puilor de găină, împiedică dezvoltarea normală a penelor şi scheletului.

În fine, selecţia evolutivă a elementelor esenţiale vieţii este strîns legată şi de dimensiunile şi densitatea de sarcină ale atomilor.

Bineînţeles că elementele transuranice cunoscute pînă astăzi, începînd cu Np, Z = 93 şi terminînd cu hahniu (Z = 105), ca şi elementele cu Z = 43 şi 61 (Tc, Pm) preparate pe cale artificială, nu au fost disponibile pentru natură. De asemenea, elementele cu Z = 84 — 92 (Po, At, Fr, Rn Ra, Ac, Th, Pa, U) cu caracter radioactiv însemnat, nu au putut şi nu pot fi utilizate în structurile vii.

În plus dacă ţinem seama de reactivitatea foarte scăzută a celor 6 gaze rare (He, Ne, Ar, Kr, Xe, Rn) considerate pînă în 1962 ca inerte, cît şi de accesibilitatea dificilă a unor elemente din seria lantanidelor şi a actinidelor, ca şi toxicitatea ridicată a Be, Hg şi Pb, înseamnă că din cele 90 elemente existente în natură, de abia 50—52 au fost disponibile utilizării lor potenţiale pentru structurile vii.

Din cele 25 elemente cunoscute, considerate ca esenţiale pentru organismele vii, numai trei au Z > 34; ele sînt Mo, cu Z = 42, Sn, cu Z = 50 şi I_2 cu Z = 53 şi sînt folosite de organismele vii numai sub formă de urme, ultimul, cu cea mai ridicată masă atomică, este un constituent esenţial al hormonilor tirodieni, tiroxina şi triiodotironina.

Elementele care se găsesc în cele mai mari proporţii în structura organismelor vii, H_2, C, O_2 şi N_2 au toate raze atomice şi numere de ordine mici: 1, respectiv 6, 7 şi 8 şi pot ajunge uşor la configuraţii electronice stabile prin acceptarea de 1—4 electroni, proprietate care con-

stituie punctul de plecare pentru formarea unor legături care să ducă la molecule stabile.

Următoarele 7 elemente, întîlnite în concentrații mai însemnate în organismele vii au toate $Z < 21$ (fig. 2.1), iar restul de 10 elemente prezente în organismele plantelor și animalelor au Z cuprinse între 23 și 34 cu excepția F($Z = 9$ și a Si $Z = 14$) și sînt folosite numai sub formă de urme. Este interesant de observat că Ga, Ge și As, elemente cu Z imediat inferioare lui 34, adică 31, 32, 33, cît și Al și In, cu proprietăți analoage Ga, nu sînt necesare organismelor vii, în timp ce Si și Sn, analoage Ge, au fost de curînd incluse în cadrul elementelor necesare vieții. Nu este exclus ca și Ge să aibă un rol vital, cu toate că din punct de vedere al răspîndirii sale în scoarța terestră, face parte din grupa elementelor rare.

În ceea ce privește rolul celor 25 elemente esențiale organismelor vii, șase dintre ele și anume : C, N, H, O, P și S, constituie baza edificiului molecular al materiei vii : aminoacizi, zaharuri, acizi grași, purine, pirimidine și nucleotide. Exceptînd rolul lor biochimic independent, aceste molecule reprezintă constituenții unor macromolecule ca : proteine, glicogen, amidon, lipide și acizi nucleici.

Sulful, alături de C, H, O și N, intră în compoziția unor aminoacizi ca cistina, metionina și este prezent în multe coenzime.

Fosforul are un rol important în nucleotide ca adenozintrifosfatul, considerat ca centrala energetică a celulei, care include una din cele 4 nucleotide necesare formării acidului dezoxiribonucleic dublu helicoidal, ce încorporează codul genetic al tuturor plantelor și animalelor. El este prezent, de asemenea, în unele coenzime, iar alături de calciu, joacă un rol important în formarea oaselor.

În ceea ce privește proprietățile electrochimice ale materiei vii, ele depind, așa cum se știe, numai de combinațiile solubile ale elementelor care disociază în ioni la dizolvarea lor în apă. Principalii cationi sînt furnizați numai de 4 elemente puternic electropozitive din grupele principale I și II ale sistemului periodic: Na^+, K^+, Ca^{2+} și Mg^{2+}, iar principalii anioni de Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-}. Acești 7 ioni mențin neutralitatea electrică a fluidelor și celulelor organismului și joacă un rol important în menținerea volumului corespunzător de lichid al sîngelui și al altor fluide ale organismului. Funcțiile electrochimice ale cationilor și anionilor din organism servesc la menținerea unor relații convenabile între presiunea osmotică și distribuția de sarcină de ambele părți ale membranei celulare semipermeabile, care permite trecerea ionilor și a unor molecule mici, dar împiedică accesul unor macromolecule, jucînd astfel rolul unor bariere fizice, unor astfel de schimburi.

Distribuția ionilor în mediile fluide ale organismului indică o specificitate a acestora ; astfel celulele sînt bogate în potasiu și Mg, iar

plasma înconjurătoare în Na și Ca. Această repartiție a ionilor în plasma animalelor superioare reflectă de fapt originea oceanică a strămoșilor lor. Deși acești ioni, Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, au aceeași configurație electronică de octet, ns^2np^6 și raze ionice apropiate și sînt predominanți atît în apa de mare cît și în sisteme biologice, ei prezintă o specificitate biologică greu de explicat, selectată în timp, de către celula primitivă.

Al treilea grup de elemente strict necesare vieții, a căror importanță este analoagă vitaminelor, sînt aproape în totalitatea lor metale tranziționale și sînt folosite numai în cantități foarte mici, în urme ; în concentrații mari sînt toxici. Ionii acestor elemente au configurații electronice incomplete și o tendință însemnată de a forma combinații complexe cu liganzi sau grupe moleculare de tipul celor existente în catenele laterale ale proteinelor.

Un număr însemnat din aceste metale, Zn, Cu, Mn, Mo, Co, Cr, Fe, V sînt încorporate puternic în anumite enzime, formînd metaloenzimele (p. 211), iar ionii altora activează multe enzime, participînd astfel la o varietate largă de procese metabolice.

În fine, unele elemente ca : beriliu, itriu, Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Ag, Au, Zn, Cd, Hg, As, Se, Sn, Pb au o acțiune carcinogenetică (cap. 9). Densitățile de sarcină superioare ale ionilor Be^{2+} și Y^{3+} cu configurație de octet ca și ionii Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, cu importante funcții biologice, le conferă proprietăți complexante superioare ; se pare că ele simulează și blochează acțiunea ionilor Mg^{2+}, așezat sub Be^{2+}, respectiv a Ca^{2+}, situat diagonal cu Y^{3+}.

Arsenul, seleniul și cadmiul situate în sistemul periodic în grupele V, VI respectiv II b, sub N, P, respectiv O, S și Zn par a simula acțiunea elementelor esențiale (N, P, O, S, Zn) așezate imediat deasupra lor în sistemul periodic.

Deoarece la organismele vii apariția „bolii" este în multe cazuri o consecință a creșterii sau micșorării concentrației unor ioni metalici, a interacțiunilor lor reciproce, a pătrunderii în organism a unor poluanți metalici, substanțe toxice, bacterii sau virusuri și a competițiilor permanente metal-ligand, chimiei bioanorganice îi revine un rol important în elucidarea comportării lor în organismele vii.

BIBLIOGRAFIE

92, 109, 142, 328, 343, 344.

3

ELEMENTE ESENȚIALE ȘI MICROELEMENTE ÎN SISTEME BIOLOGICE

3.1. Generalități

Organismele vii utilizează pentru propriile lor necesități un număr relativ redus de elemente chimice, 25, dintre care molibdenul, Mo, cu Z = 42 este cel mai greu metal, iar iodul, I, cu Z=53, cel mai greu nemetal, cu importanță biologică. Unele din aceste elemente sînt absolut necesare, esențiale dezvoltării lor, altele posibil esențiale, tolerabile sau neesențiale, lipsa lor putînd fi substituită de prezența altora. (fig. 2.2.)

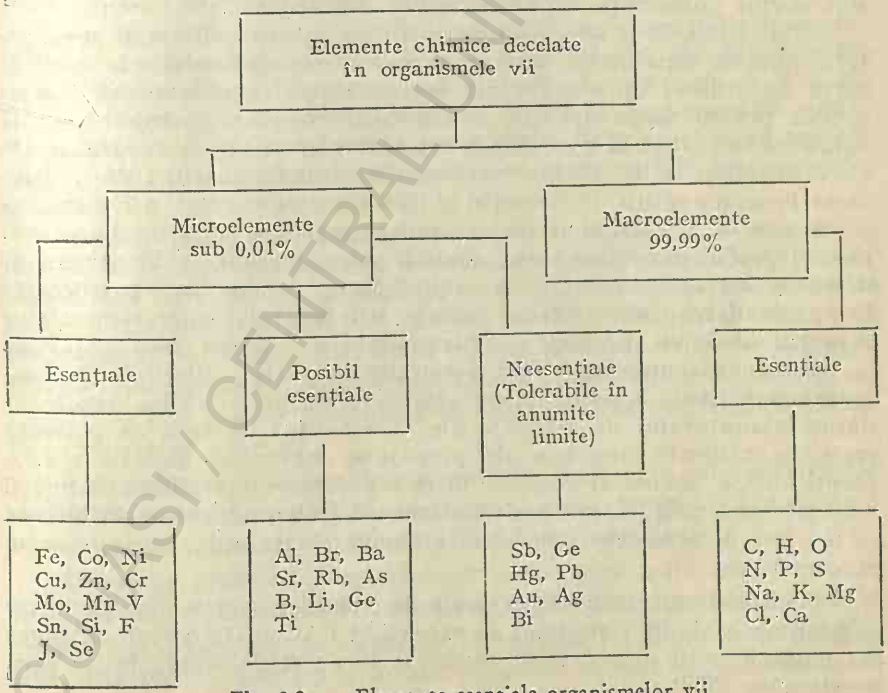


Fig. 2.2. — Elemente esențiale organismelor vii

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Determinarea caracterului de „esențial" al unui element este deosebit de dificilă, iar procesele biologice dependente de ele, deosebit de variate ca funcție și complexitate. Utilizarea lor se face în cantități care variază de la ordinul gramelor, la ordinul părților de milion (ppm) sau părților de bilion (ppb), de unde și denumirea lor de „microelemente", „elemente în urme", (trace element; spurenelement), oligominerale" „oligoelemente", termeni încă imprecis definiți. De obicei elementele care se găsesc în cantități egale sau mai mici de 1 mg/kg țesut sau sub 0,01% țesut uscat în greutate, sînt considerate „elemente în urme" (trace element; spurenelement).

Deși frecvent utilizate în practică, funcția specifică exercitată de multe elemente, structurile în care se integrează, sînt numai parțial cunoscute, sau necunoscute.

Practica medicală a confirmat însă, de multă vreme, că multe maladii și tulburări metabolice se datoresc unei lipse sau unui exces al unor compuși metalici sau nemetalici. Din păcate, de cele mai multe ori nu s-a făcut nici o deosebire între perturbările metabolismului oligoelementelor, care constituie cauza primară a maladiei și cele care sînt simple consecințe ale altor leziuni preexistente.

Mult timp, lipsa unor metode analitice cu sensibilitate și specificitate ridicată, capabile să deceleze prezența oligoelementelor în concentrații de ordinul ppm sau chiar mai mici, ppb, concentrații uneori optime pentru unele din ele, a constituit un factor important în studierea lor, cît și în ceea ce privește valorile, de obicei, controversate ale cantităților lor în diferite țesuturi, raportate de diferiți autori. Utilizarea în scop analitic a absorbției și fluorescenței atomice, a fluorescenței de raze X, a analizei activate, a polarografiei cu redizolvare anodică, cromatografia gaz-lichid etc., metode care permit evidențierea și determinarea unor cantități de ordinul ppm, deschide noi perspective în aprofundarea cunoștințelor actuale privind rolul microelementelor în organismele vii, problemă fundamentală a chimiei bioanorganice.

În scopul comparării însă a datelor analitice, diferitele laboratoare participante la astfel de cercetări, vor trebui să aplice recomandările laboratorului de referințe ale O.M.S.-ului, în ceea ce privește metodele utilizate, tehnicile de preparare, macerare, digestie etc. a eșantioanelor, schimbul acestora între laboratoare în vederea validării rezultatelor și asigurarea unor eșantioane de referință, cel puțin în ceea ce privește determinarea oligoelementelor în sînge, lapte, carne, legume și cereale.

În cadrul cercetărilor privitoare la relațiile dintre oligoelemente și diferitele maladii, Comitetul de experți ai FAO și OMS-ului, au sugerat unele direcții prioritare de cercetare în acest domeniu, dintre care menționăm (363) :

— efectele oligoelementelor alimentare asupra genezei și tratamentului malnutriției la copii și preșcolari;

— rolul oligoelementelor în etiologia diabetului și bolilor cardiovasculare;

— relații între concentrația oligoelementelor în roci, soluri și ape și mortalitatea prin boli cardiovasculare.

— influența bilanțului zincului asupra creșterii, dezvoltării și reacției la arsuri;

— relații între bilanțurile oligoelementelor esențiale și toleranța la metale grele etc.

După Underwood (328) elementele în urme pot fi grupate în: *dietetice esențiale, posibil esențiale* și *neesențiale*. Un element este considerat esențial pentru organismele vii dacă: a) este prezent în toate țesuturile normale ale materiei vii, în concentrații aproape constante de la animal la animal; b) suprimarea lui induce reproductibil aceleași modificări structurale și fiziologice, indiferent de speciile studiate; c) administrarea elementului evită și înlătură simptomele produse și reface modificările biochimice produse în lipsa lui.

Din figura 2.1 unde sînt indicate elementele esențiale și neesențiale la mamifere (206) se observă că, în mare măsură, ele sînt elemente tranziționale cu Z mari, exceptînd fluorul și siliciul, nemetale cu $Z < 20$. Dealtfel dintre componenții metalici totali ai organismului, patru metale Na, K, Mg, Ca reprezintă aproximativ 99%. în timp ce concentrația totală a metalelor tranziționale în urme, esențiale sau poluante, este sub 10 g.

Esențialitatea unui microelement nu constituie o caracteristică pentru toate organismele; așa de exemplu borul este esențial pentru plante, dar nu și pentru mamifere; o situație inversă pare a se întîlni după toate probabilitățile în cazul iodului (206). Diferențe de acest gen se pot întîlni chiar între diferite specii de animale, din care cauză evaluarea și extrapolarea rezultatelor și deducțiilor de la o specie animală la alta sau de la animale de experiență la om, trebuie făcută cu prudență și rezervă.

Determinarea limitelor de concentrație între care microelementele manifestă o acțiune esențială, inertă, toxică sau terapeutică, constituie o problemă importantă a chimiei și biochimiei anorganice.

Deoarece produsele vegetale constituie masa principală a substanțelor minerale necesare animalelor, inclusiv a omului maladiile de nutriție observate, se datoresc incapacității solului de a furniza, prin intermediul plantelor, aceste elemente în cantități corespunzătoare.

Majoritatea „elementelor în urme" provin mai ales din hrana zilnică; cantități mici provin din aerul atmosferic, exceptînd regiunile puternic poluate, iar pentru unele din ele, apa constituie o sursă semnificativă (283).

În cadrul proceselor tehnologice industriale de rafinare, a tratamentelor acide sau bazice tot mai avansate a alimentelor, ca și utilizarea unor resurse noi neconvenționale de proteine, este însoțită de sărăcirea acestora în elemente esențiale (tabelul 6); nu este exclusă posibilitatea contaminării alimentelor prin prelucrare, cu elemente toxice.

Pierderile medii % a oligoelementelor din legume prin fierbere sînt de 86% în cazul Co, 70% Mn, 66% Cu, 47% Mg și 40% Cr (282).

Tabelul 6

Pierderea % a unor oligoelemente prin rafinarea alimentelor (283, 202)

	Mg	Cr	Mn	Co	Cu	Zn	Mo	Fe	Se
Grîu	80	87	88	50	63	75	48	76	—
Orez	83	75	27	38	25	50	—	—	—
Zahăr	99	90	89	88	80	98	—	—	75
Ulei	99	—	—	—	—	75	—	—	—
Unt	94	—	—	—	—	50	—	—	—

Din această cauză, în viitor se preconizează suplimentarea cu microelemente a alimentelor. Pe această linie forma cea mai ușor utilizabilă a bioelementelor în organism cît și proporția lor unele față de altele, pentru a se evita eventualele lor interacțiuni antagoniste, (Ca — Zn, Pb — Zn, F — Cd, Cu — S — Mo, Zn — Se — Cd, Se — Hg, Cu — Cd, Cu — V etc.), constituie probleme importante de studiu (173).

3.1.1. Modul de acțiune al microelementelor

Microelementele esențiale apar și funcționează în organismele vii în concentrații scăzute, caracteristice și variabile ca mărime, în funcție de natura microelementului. Ele sînt exprimate uzual în ppm, $\mu g/g$; 10^{-6} sau pentru unele din ele ca: I, Cr, Ni, V, în ppb, ng/g sau 10^{-9}. În unele cazuri microelemente neesențiale ca Br, Rb, se găsesc în țesuturi animale mult superioare majorității microelementelor esențiale. Menținerea concentrațiilor caracteristice fiecărui microelement esențial, este însoțită de o dezvoltare normală a animalului. Ingerarea

continuă a unor diete alimentare sau expunerea excesivă, în mediu în care conținutul în microelemente este mult deficitar sau în mare exces, este însoțită de o variație însemnată a concentrației sale de la limitele normale, care se manifestă prin afectarea funcțiilor fiziologice și apariția unor tulburări structurale denumite *oligomineraloze* sau *dismineraloze* pe căi care diferă de la element la element, dependente de gradul și durata la diete deficitare sau toxice, în raport cu specia, vîrsta și sexul animalului afectat. În unele cazuri apar mecanisme de protecție proprii organismului animal.

Microelementele îndeplinesc o gamă largă de funcțiuni și acționează mai ales în calitate de catalizatori în metaloenzime (p. 211). Cheia specificității potențialului lor catalitic constă, după Vallée (329), în diversitatea și aranjamentul topologic atît al centrelor lor active cît și al atomilor lor metalici, interacționînd ca un întreg cu substratele lor.

Interacțiunile metal-proteine măresc în același timp activitatea catalitică a enzimelor ca și stabilitatea suportului proteic la turnoverul metabolic.

Cu toate că microelementele și activitățile tisulare a numeroase metaloenzime au putut fi corelate cu manifestările de carență sau toxicoză la animale, numeroase tulburări clinice și patologice observate la animal, consecințe ale acestor carențe sau excese în microelemente, nu pot fi explicate încă pe baze biochimice. Se sugerează astfel posibilitatea existenței de enzime, încă necunoscute, sau localizate microelement-dependente sau a implicării microelementelor în activitatea și structura altor compuși vitali în țesuturile organismului.

După Venchikov (331) microelementele acționează în trei zone : *zona de acțiune biologică* (unități sau zeci de micrograme) însoțită de creșterea proceselor bioenergetice și de răspuns protector al organismului; *zona de acțiune farmacotoxicologică*, în care oligoelementele în doze mari, produc efecte iritative sau depresive asupra sistemelor vitale *și zona inactivă* (zeci sau sute de micrograme) zonă de tranziție între celelalte două, în care efectele oligoelementelor sînt neînsemnate sau absente

3.1.2. Necesități și toleranță

Cantitatea minimă în microelemente esențiale necesare organismelor vii ca și aportul lor maxim tolerabil, se exprimă uzual, ca proporție sau concentrație în dieta uscată consumată zilnic. Forma chimică în care microelementul se găsește în dieta ingerată influențează simțitor biodisponibilitatea lui.

Importanță deosebită prezintă nivelul altor elemente existente în hrană care pot influența biodisponibilitatea sau utilizarea elementului

în cauză. În acest sens este indicată precizarea necesarului de bază minim sau „real" în sensul în care toate condițiile alimentare care afectează un anumit element pe calea interacțiunilor posibile care ar avea loc în organism, sînt la un optim.

Aportul de microelemente din mediu, prin alimente, apă, aer, variază însă în limite destul de largi, calitativ și cantitativ, nefiind întotdeauna adecvat cerințelor organismului. De asemenea, mecanismele homeostazice care asigură controlul nivelelor compatibile fiziologic sînt relativ recente din punct de vedere filogenetic și prezintă unele puncte nevralgice, deschise competiției între diferite elemente chimice. — În astfel de condiții, probabilitatea unor dereglări crește considerabil, mai ales în cazul persistenței unui dezechilibru între microelemente, ca urmare a ingerării continue a unor anumite diete sau a expunerii excesive în medii deficiente sau supraîncărcate în ceea ce privește concentrația unora sau mai multor elemente.

Dintre etapele metabolice ale microelementelor, procesul absorbției pare să fie cel mai amplu cunoscut sub aspectul interacțiunilor, care la acest nivel sînt posibile pe multiple căi, cel mai adesea implicînd competiția pentru centri activi ai sistemelor de transport transmucozal.

Astfel, s-ar explica faptul că absorbția Fe scade în aporturi mari de Co, Cu, Mn, Zn, dar că la rîndul lor, aceste elemente sînt mai puțin absorbite cînd Fe din dietă este în exces. La fel, aporturi mărite de Zn deprimă absorbția Cu și Cr, după cum și acestea, în exces, afectează negativ captarea Zn (343).

Semnificativ este și faptul că în stări de carență, paralel cu amplificarea absorbției elementului deficitar, se modifică și captarea celorlalte microelemente. Astfel, în carența de Fe crește absorbția, Co, Mn, Ni, în timp ce in carență de Zn crește adsorbția Cu și a Cr.

Diminuarea absorbției poate avea loc și prin formarea unor compuși greu absorbabili sau cu o biodisponibilitate redusă, între unele elemente, în anumite condiții dietetice. Acest aspect este ilustrat în cadrul interacțiunii dintre Al și F, care duce la inhibarea absorbției F, sau, mai complex, la nivelul triplei intercondiționări ce are loc între Cu—Mo—S.

Există însă numeroase dovezi că un dezechilibru în balanța dietetică a microelementelor are repercusiuni asupra tuturor etapelor metabolice ale fiecărui element.

Astfel, aporturi mari de Mo și sulfați induc o redistribuire marcată a Cu sanguin din eritrocite spre plasmă, iar distribuția sa în țesuturi poate fi modificată de către Ag și Mg. De asemenea este cunoscut efectul limitant al Mo asupra reținerii Cu în ficat, dar că Mn poate bloca sau antagoniza acest efect.

Legarea Cu de proteinele hepatice poate fi alterată și în condițiile unui exces în dietă de Zn, exces care antrenează paralel diminuarea depozitării hepatice a Fe, prin inhibiția sintezei feritinei.

De importanță considerabilă sînt și implicațiile de ordin toxicologic ale modificării proporției cantitative între microelemente. În acest sens se poate vorbi de existența unor nivele de securitate pentru microelementele cu ridicat potențial toxic, dependent de gradul în care sînt prezente elementele care pot afecta absorbția sau retenția lor. Astfel, toxicitatea Cd este atenuată în prezența unei anumite proporții de Zn sau Se și în mai mică măsură în prezența Mn și Cu. De asemenea toxicitatea Cu poate fi modificată de aporturi adecvate de Fe și Zn, după cum și efectele toxice ale Zn pot fi contracarate de anumite nivele ale Cu. A fost semnalat și faptul că As, Ag, Cd, Cu și Hg conferă protecție față de efectele toxice ale Se, dar aceasta se realizează prin mecanisme distincte. Astfel, selenoza poate fi prevenită dacă se menține un raport de 1 : 1 între Se și Hg sau între Se și Cu. Interesant este însă faptul că Se, la rîndul său poate proteja organismul față de efectele nocive ale unor elemente, în particular ale Hg. În acest sens KOSTA și col. (169) au observat că acumularea concomitentă a Hg și Se în organele și țesuturile minerilor din minele de mercur, sub raport de 1: 1 a fost fără efecte nocive asupra indivizilor, mulți dintre ei fiind pensionari de vîrstă și nu ca urmare a expunerii la nivele toxice de Hg timp îndelungat.

În același context se înscrie și observația că toxicitatea oricărui nivel particular al Mo în dietă este afectată de raportul cantitativ între Mo și Cu dietetic. Tot aici semnalăm că raportul între Mn și Fe necesită atenție mărită întrucît nivelul minim de Mn capabil să afecteze formarea hemoglobinei este în domeniul ppm.

Interesant este faptul că, în unele cazuri, varietatea proporției între microelemente generează un răspuns adaptativ al organismului. Așa de exemplu, compoziția xantinoxidazei se modifică fără ca activitatea ei să fie sensibil diminuată, în funcție de proporția de Cu, Mo și Fe în dietă sau țesut. Un alt aspect revelator în această privință este acela că transferina, transportorul plasmatic al Fe, poate lega și Cu, Cr, Mn, Zn, Ga, In, fiind, în plus, aptă de a transporta și Se.

Varietatea aspectelor pe care le comportă problema acțiunii biologice și a interacțiunilor dintre microelemente reclamă însă aprofundarea studiilor, mai ales în direcția surprinderii mecanismelor moleculare, implicate în exprimarea lor.

3.1.3. Boli și dereglări element-dependente

Excesul sau deficitul în ioni metalici din organism explică multe afecțiuni clinice sau patologice, în timp ce concentrațiile intermediare

sînt esențiale dezvoltării normale. Dealtfel fiecare organism necesită o concentrație optimă dintr-un element dat, peste care sau sub care, nu se mai dezvoltă corespunzător. Tabelul 7 indică principalele boli și dereglări dependente de metale.

Tabelul 7

Boli și dereglări dependente de metale

Element	Afecțiuni în care este implicat	Element	Afecțiuni în care este implicat
Ca	Cataracte, tetanie.	Na/K	Boala lui Addison, guta.
Co	Anemie pernicioasă, miocardiopatie.	Zn	Anomie, cancer, hipogonadism, ciroză hepatică, tulburări de creștere, acrodermatită enterohepatică, anomalii de schelet.
Cu	Limfoame, infarct miocardic, artrite reumatice, boala lui Wilson, psoriasis, leziuni arteriale, hepatite infecțioase, leucemie, ciroză, nefrite, boala lui Hodgkin, dereglări pigmentare, tulburări de creștere.	Cr	Toleranță scăzută la glucoză, neuropatie periferică.
		Mn	Dereglarea spermatogenezei, anomalii de schelet.
		Se	Deces intrauterin al fătului, distrofie musculară.
Fe	Anemie feriprivă, iritații ale mucoaselor, colaps cardiac, clorază, hemosideroză, hemocromatoză.	I	Distrofia endemică tireopată.
		F	Fluoroză, carii dentare.
		Cd Pb Hg As Be	Toxici puternici și poluanți majori.
Li	Sindrom maniacodepresiv		
Mg	Spasmofilie infantilă, boli gastrointestinale.		

Ionii metalici, în special cei tranziționali, exercită un control calitativ și cantitativ asupra reacțiilor catalitice, oxidoreducătoare, de hidratare, deshidratare, hidroliză etc., din organism și pot influența direct sau indirect activitatea enzimelor.

După abundență și importanță în metaloenzime, metalele pot fi încadrate în seria : Fe > Mg > Mn > Ca > Zn > Cu > Co > Mo > V > Cd.

Prezența Cr, Ni, Mn în preparate de ARN provenite de la diferite surse, în concentrații constante față de concentrația fosfatului, 1 : 50 pentru ARN și 1: 150 pentru ADN, ar putea exercita un control asupra configurației acizilor nucleici, stabilizînd structura lor helicoidală secundară într-un mod analog cu ditiolegăturile în punte și li s-ar putea atribui un rol în sinteza proteinelor și în transmisia informației genetice; dealtfel, cuprul prezintă capacitatea de a desfășura și reînfășura helicele ADN-ului.

Concentrația microelementelor în sîngele uman, corelată cu alți parametri, este utilizată clinic în scop de diagnostic și tratament. Așa de exemplu, limitîndu-se la microelemente mai puțin cunoscute, concentra-

ții inferioare de zinc în plasmă au fost semnalate în ateroscleroză, tumori maligne, afecțiuni hepatice, infarct miocardic, hipertonie, hipertiroidism, anemie pernicioasă, tuberculoză activă, infecții acute și cronice. Conținutul redus al Zn în leucocite, în leucemia cronică, ca și în unele boli neoplazice, ar putea constitui un test de diagnostic al cancerului. În infecții acute sau cronice, concentrația serică a Fe și Zn scad, iar cea a cuprului crește.

Raportul $[(Zn) + (Se) + (Rb)]/(Fe)^3$ este utilizat de către Kasperck (157) ca un parametru biochimic de diagnostic; el are valorile: 1,8 în carcinoame; 2,3 în pielonefrită cronică; 3,0 în hipertiroidism, 3,75 în procese inflamatorii acute și 4,8 în diabet zaharat (157). În mod analog Reis, ținînd seama de raportul dintre echivalenții elementelor și volumul lor atomic, a introdus noțiunea de *linia substanțelor nutritive* („Nährstofflinie") ca indicator al acțiunii fiziologice a microelementelor. Așa de exemplu ionii bivalenți ai microelementelor mai ușoare sînt activatori ai enzimelor, în timp ce ionii mai grei, cu numere de oxidare superioare, manifestă acțiune inhibitorie.

În tabelul 8 se poate urmări modificarea concentrației serice a unor microelemente în diferite maladii.

Deoarece conținutul în diferitele organe ale unui microelement este o rezultantă a interacțiunii mai multor factori (alimentație, mediu înconjurător, resorbție activă sau pasivă, transport cu ajutorul proteinelor, depozitare, etc.) iar modificarea concentrației lui poate constitui *cauza* sau *efectul* unei îmbolnăviri, în cazul coexistenței unei concentrații anormale microelement — boală, nu sînt excluse cazuri de a acorda în mod nejustificat microelementului rolul factorului etiologic hotărîtor.

Tabelul 8

Concentrația unor microelemente în ser

Maladie	Nivele	
	Crescute	Scăzute
Infarct miocardic	Cu, Ni, Mn	Zn, Co
Ateroscleroză	Cu, Mn, Mo	Zn
Hipertensiune	Cu	Zn, Co
Ciroză hepatică	Cu	Ni, Zn
Boala lui Wilson	—	Cu, Zn
Infecții acute	(Cu)	Zn, Fe
Leucemie	Cu	Zn
Uremie	—	Ni, Zn

Din această cauză se recomandă a se cerceta acele organe asupra cărora microelementul își exercită cu predilecție acțiunea fiziologică

sau nocivă, sau să se țină seama de valorile mai multor elemente și de raportul acestora. Așa de exemplu raportul Cd/Zn este crescut semnificativ în hipertensiune, comparativ cu conținutul cadmiului luat ca atare.

Cercetări recente efectuate sub egida OMS-ului au atras, în mai multe rînduri, atenția asupra relației între microelemente și bolile cardiovasculare (cap. 8). Deoarece aceste boli constituie cauza principală a mortalității în țările industrial-avansate, echilibrul microelementelor din organism și mediu, modificat în mod adecvat prin alimentație, ar putea constitui un factor important în reducerea incidenței acestora.

Acumularea unor metale în unele organe, în tumori maligne și corelarea acestor date cu variațiile geografice ale frecvenței mortalității prin cancer, indică și în acest caz, rolul important pe care l-ar putea avea factorul de mediu.

Corelarea datelor privind conținutul surselor de apă în „metale în urme" și cancerul, au confirmat, în cazul plumbului, mortalitatea ridicată prin cancer renal, gastric, intestinal, ovarian, prin leucemie, în cazul beriliului, prin cancer osos, uterin și mamar, cît și frecvența scăzută a cancerului în cazul seleniului, dar ridicată în cazul cadmiului Este cunoscută și incidența ridicată a cancerului tiroidian în regiunile deficitare în iod, dar chiar și în cele în care acest element se găsește în exces.

Concentrarea seleniului în tumori cu creșterea rapidă, permite utilizarea sa în diagnosticul tumorilor cerebrale și osoase, iar a ^{67}Ga, la detectarea externă a limfoamelor maligne.

Faptul că multe tulburări clinice și patologice întîlnite la om și animale se datoresc deficitului sau excesului unor microelemente, denotă insuficienta cunoaștere a rolului și a interacțiunilor multiple și complexe ale acestora în alimentație și în starea de sănătate și de boală. Dealtfel, relația individ-mediu înconjurător și echilibrele stabilite între microelementele din organism și mediu, constituie parametri importanți în evaluarea stării de sănătate sau de boală a unei populații.

BIBLIOGRAFIE

56, 65, 128 a, 157, 169, 173, 202, 206, 282, 283, 328, 329, 331, 343, 363.

3.2. Metalele alcaline și transportul lor prin membrane

3.2.1. Generalități

Elementele situate în grupa I principală a sistemului periodic — litiu, sodiu, potasiu, rubidiu, cesiu și franciu, cunoscute și sub denumirea de metale alcaline, dispun de un singur electron de valență într-o orbi-

tală *ns*, pe care-l cedează cu ușurință, formînd cationii Me^+, cu configurație de octet, ns^2np^6, exceptînd Li^+ ($1s^2$). Potențialul lor de ionizare și electronegativitatea au valori mici, care scad în grupă cu creșterea lui *Z*.

Ionii metalelor alcaline sînt acizi Lewis duri (p. 15) și prezintă o tendință redusă de a forma combinații complexe, cristalohidrați sau compuși metalo-organici, exceptînd litiu (asemănare diagonală cu Mg). Această tendință scade în grupă cu creșterea razei ionice de la Li^+ la Cs^+ și este favorizată în general, de schimbul entropic mai curînd decît de cel entalpic (311). Ca surse principale ale acestei entropii sînt considerate moleculele de apă eliberate, conform reacțiilor de echilibru, care au loc în celule :

$$Me(H_2O)_x + L(H_2O)_y \rightleftarrows MeL(H_2O_2)_z + (x + y - z)\,H_2O.$$

Dintre ionii metalelor alcaline importanță biologică prezintă ionii de Na^+ și K^+ iar în ultimii ani și cel de Li^+. Stabilizator al lichidelor umorale, litiu este utilizat curent în tratamentul tulburărilor de comportament. Astfel la populațiile a căror apă potabilă conține cantități mai mari de litiu (100 μg/l), procentajul comportărilor agresive ca și al omociderilor și sinuciderilor, al mortalității datorită maladiilor cardiovasculare cît și al spitalizărilor datorită afecțiunilor psihice este mai scăzut, comparativ cu regiunile vecine în care conținutul în litiu al apei potabile este mult mai redus (364).

Slaba răspîndire a maladiilor cardio-vasculare și a ulcerelor gastro-duodenale la indienii Pima din Arizona (SUA), cît și comportamentul lor deosebit de pașnic, de liniștit, sînt atribuite conținutului ridicat în litiu al apei (100 μg/l) (364). Apele minerale, cu un conținut ridicat în litiu (pînă la 700 μg/l) sînt utilizate, în multe țări, în tratamentul calculilor renali, gutei și reumatismelor. În Europa conținutul apei potabile în litiu este în medie de 8 μg/l (364).

În celule este predominantă concentrația ionilor K^+ și Mg^{2+}, iar în plasmă a ionilor Na^+ și Ca^{2+}. Așa de exemplu, în hematii, proporția $K^+ : Na^+$ este de 105 : 10, iar în plasmă de 5 : 143. Diminuarea metabolismului celular sau distrugerea celulelor este însoțită de scăderea concentrației ionilor de K^+ și creșterea celor de Na^+. Dealtfel, celula exercită un permanent control de diferențiere asupra concentrației acestor ioni. Energia necesară menținerii procesului de „pompare" a ionilor alcalini prin membrana celulară, care funcționează ca o barieră vie, împotriva gradientului de concentrație, este furnizată de hidroliza enzimatică a ATP cu ajutorul Na^+/K^+ ATP-azei.

În organism ionul Na^+ are o acțiune hidropigenă cu rol important în repartiția apei, în reglarea presiunii osmotice, a echilibru-

lui acido-bazic, excitabilității neuromusculare și în dinamica fenomenelor de polarizare și depolarizare ale membranei celulare.

Exceptînd aceste funcții generale, ionul Na^+ îndeplinește puține funcții specifice, ca de exemplu, cofactor în reacții enzimatice.

În celule, ionul Na^+, cu rază de 0,95 Å și cu densitate de sarcină relativ ridicată, acționează procesul de „puffing" al cromozomului, iar structura cristalină a sodiu-adenosil-3',5'-uridin-fosfatului constituie o indicație a modului de acțiune a acestui ion asupra acizilor nucleici.

Introdus în organism prin alimentație sub formă de NaCl, aproximativ 10—12 g/zi, este absorbit aproape total în tractul intestinal. Resorbția sa se face mai ales la nivelul tubilor proximali și în mică măsură, în tubii distali.

Principala cale de eliminare a sodiului, în concentrații de 4—5 g/zi, se face prin urină și în cantități mult mai mici prin piele (25 mg). Reglementarea eliminărilor de apă și sodiu este influențată de factori hormonali și nehormonali.

Ionul de potasiu, cu cea mai mare rază 1,33 Å și cu cea mai mică densitate de sarcină între ionii Mg^{2+} (0,65 Å), Na^+ (0,95 Å) și Ca^{2+} (0,99 Å), nu este hidratat și are o mobilitate însemnată atît în medii apoase cît și în țesuturi care conțin lipide. Ionul K^+ are un rol important în menținerea echilibrului hidro-mineral și acido-bazic, în condiționarea excitabilității celulelor și propagarea influxului nervos; este indispensabil activității metabolice a celulelor favorizînd activitatea a numeroase enzime (ATP-aza, piruvatkinaza etc.), participă la procesul de formare a glicogenului din glucoză, la sinteza proteinelor, pare a fi necesar stocării și secreției insulinei și este antagonistul ionilor de Na^+ și Ca^{2+}.

3.2.2. Agenți ionofori

Transportul selectiv al ionilor metalelor alcaline prin membranele fiziologice are loc prin intermediul așa zișilor „agenți ionofori" sau „ionofori", compuși macromoleculari ciclici naturali sau de sinteză. Astfel, unele antibiotice de natură polipeptidică sau polieteri și poliamide cu cu structură macrociclică au proprietatea de a include, cu predilecție, în cavitatea ciclului, ioni ai metalelor alcaline și chiar ionul NH_4^+, ai metalelor alcalinopămîntoase sau ai altor metale, formînd combinații complexe, stabile în solvenți polari sau nepolari, cunoscute sub denumirea de *criptați* ((κρυπτοτ = ascuns; crypta = cavitate, grotă), cu rol important în transportul acestor ioni prin membranele fiziologice.

În cazul antibioticelor de natură polipeptidică, ca valinomicina, gramicidina și eniantina, cu reacție neutră la pH fiziologic, transportul ionilor alcalini are loc sub formă de complecși cationici, adică sub formă

de specii încărcate pozitiv ; macromeleculele transportoare care conțin o grupare carboxilică liberă (pH acid), ca nigericina, monesina, suferă inițial o deprotonizare și acționează ca un transportor neutru.

Deoarece compușii macrociclici sintetici au constituit modele de studiu pentru transportul ionilor metalelor alcaline prin membranele fiziologice, ne vom opri inițial la comportarea acestora și apoi a macromoleculelor naturale, unele antibiotice polipeptice.

3.2.2.1. Polieteri macrociclici

Polieterii macrociclici au fost sintetizați de către Pederson (251 a). Moleculele lor macrociclice „în coroană" (fig. 3.1) prezintă o cavitate centrală hidrofilă formată din inele care conțin atomi de oxigen, sulf

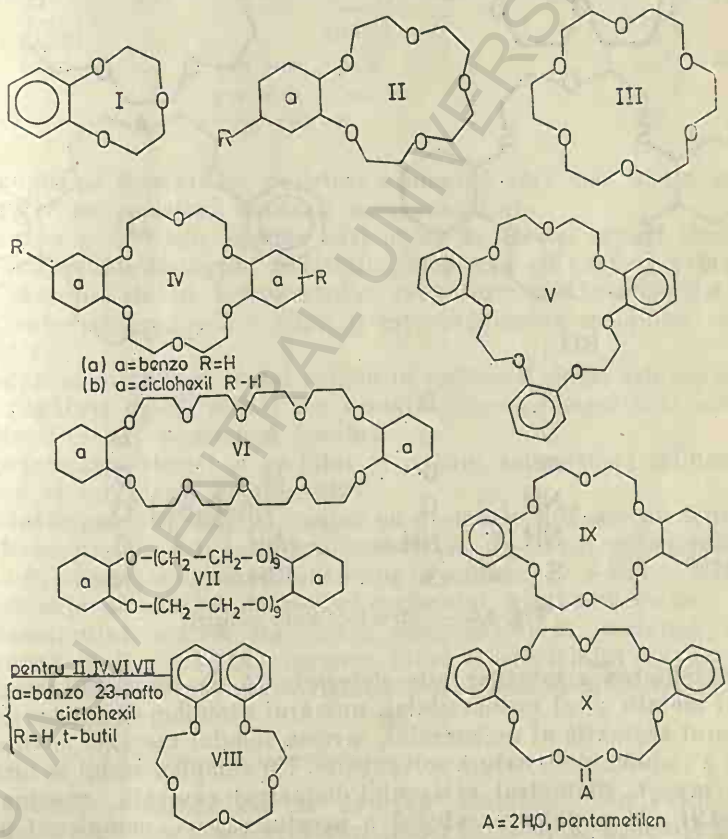
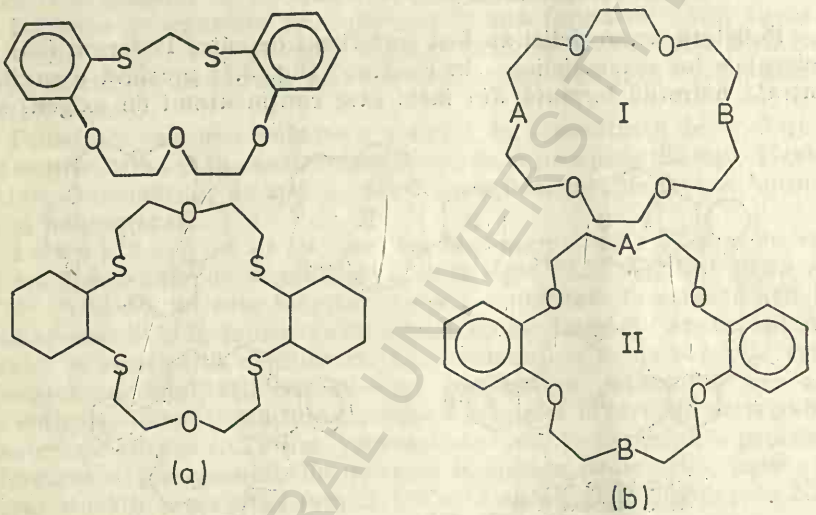


Fig. 3.1. — Exemple de polieteri macrociclici

sau azot și o cochilie alifatică sau aromatică hidrofobă. Cationul metalic ocupă, de obicei, centrul macrociclic și este complexat prin schimb de legături cu atomii cavității; cochilia hidrofobă explică solubilitatea compușilor ionici în solvenți puțin polari sau nepolari. Numărul atomilor din cicluri variază de la 9 (3. I) la 60 (3—VII); ciclurile pot conține de la 3—20 atomi de oxigen, sau atomi de oxigen sulf, azot; (fig. 3—2). Stoechiometria complecșilor obținuți este de 1 : 1 sau chiar 2 : 1 și 3 : 1.



(a)

A	B
O	O
O	O
NH	O
NH	NH
S	S

(b)

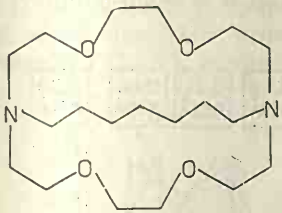
A	B
O	O
$N(n\text{-}C_8H_{17})$	O
NH	O
NH	NH

Fig. 3.2. — Structura unor polieteri

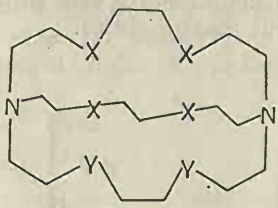
Stabilitatea criptaților este determinată de diametrul relativ al ionului metalic și al macrociclului, numărul atomilor de oxigen (S, N), caracterul aromatic al polieterului, sarcina ionului metalic, conformația sterică a ciclului și de natura solventului. Un complex stabil se formează la un raport, diametrul cationului/diametrul cavității, cuprins între 0,75—0,91; la o valoare sub 0,5 a acestui raport, complexul practic nu se formează, iar la o valoare de peste 0,9, stabilitatea lui scade. În

cazul în care volumul ionului metalic este mai mare decît acela al cavității, raportul polieter/ion metalic poate deveni 2 : 1 sau 3 : 2.

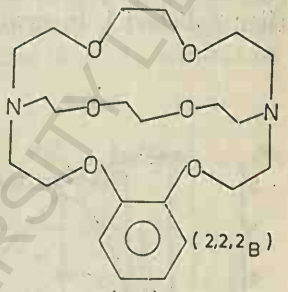
Numărul atomilor de oxigen al macrociclului trebuie să rămînă în limitele în care sarcina negativă formată este maximă; rigiditatea ciclului constituie un factor important.



(2,2,0)
(3-IV.)



(3-VII.)
(VI) X=O , Y=S
(VII) X=S , Y=O
(VIII) X = Y = S



(2,2,2$_B$)
(3-V.)

Complecșii formați cu polieteri aromatici sînt mai puțin stabili, comparativ cu polieterii saturați corespunzători.

În ceea ce privește sarcina cationului, la același raport între diametrul cationului/diametrul cavității, complecșii cu cationi avînd sarcina 2^+ sînt mai stabili, comparativ cu cei cu sarcina 1^+; în același timp, selectivitatea cationilor $2 + (\Delta pK_a)$ este superioară cationilor cu sarcina $1+$.

Legătura principală metal-oxigen în polieterii ciclici este de natură ionică (legături dipoli induși ion metalic-oxigen); caracterul covalent al legăturii crește cu sarcina ionului.

Conformația sterică a ciclului și natura solventului influențează formarea și solvatarea complexului.

Substituirea atomilor de oxigen cu atomi de sulf sau de azot duce la scăderea proprietății complexoformatoare. În cazul polieterului 18-coroană-6, constanta de stabilitate scade în ordinea : O > NR > NH > S.

Influența raportului, diametrul cationului alcalin/diametrul cavității polieterului, asupra stabilității complexului în metanol, poate fi urmărită în fig. 3.3; la creșterea taliei macrociclului se observă o scădere a stabilității din cauza rigidității polieterului înfășurat (răsucit) în jurul cationului.

3.2.2.2. Diamine macrociclice

Diaminele macrociclice „în coroană" sintetizate de către Lehn, Sauvage, Dietrich și alți cercetători (278), cu formula generală (3. IV, 3. V), au o capacitate de complexare superioară și formează complecși

mai stabili comparativ cu polieterii macrociclici. Introducerea celui de al doilea ciclu conferă moleculei coordinate o mare rigiditate, realizînd un efect de colivie, în care cationii sînt realmente închiși. Atomii de azot sînt legați prin trei punți, constituite dintr-un număr variabil de grupări $-CH_2-CH_2-O-$, notate cu $m+1$, $n+1$ și $p+1$ sau 2, 2, 2 cînd $m = n = p = 1$. Cationul metalic este situat ca și în cazul complecșilor polieterici, în centrul macrociclului.

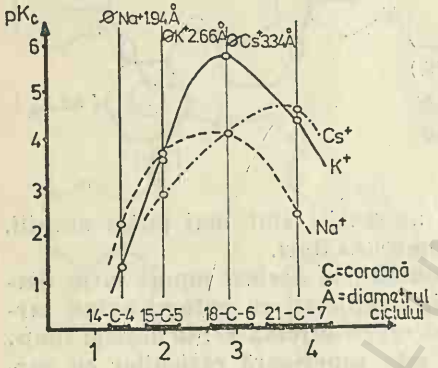


Fig. 3.3. — Influența aportului ionilor alcalini/cavitatea polieterului asupra stabilității criptaților în metanol, după Bush și col. [39]

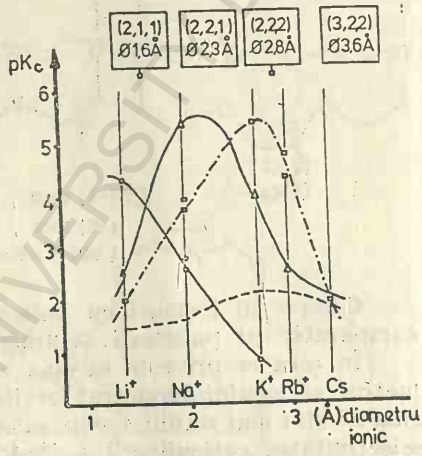


Fig. 3.4. — Variația stabilității în soluție apoasă a unor criptați alcalini cu *j* macrociclice, [39]

Prezența atomilor de azot conferă diaminelor proprietăți acido-bazice, ale căror constante de stabilitate scad de obicei de la Li^+ la Cs^+ (8, 9). Stabilitatea criptaților diamino-macrociclici este superioară criptaților polieterici (278).

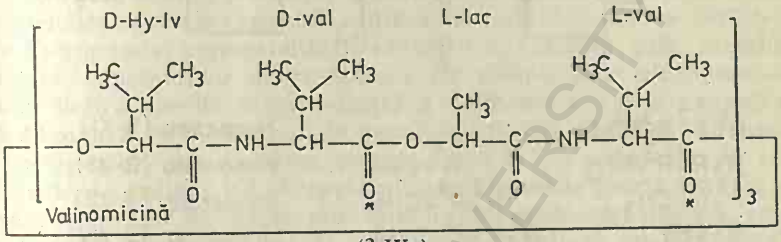
Dependența dintre constanta de stabilitate și raza relativă a cationilor metalelor alcaline și a cavității moleculare a macrociclurilor poate fi urmărită în fig. 3.4. Se observă că pentru cei mai stabili criptați, raportul, diametrul cationului/diametrul cavității este $\simeq 1$.

Selectivitatea cavității este foarte mare ; astfel, la trecerea de la diamine (1, 2, 2) cu rază 1,15 Å, la diamina (2, 2, 2) cu raza 1,4 Å, raportul selectivității K_{Na^+}/K_{k^+} trece de la 30 la 1/30 ; dublarea sarcinii electrice prin trecerea de la ionii metalelor alcaline la cei alcalino-pămîntoși este însoțită de o creștere a constantelor de stabilitate, exceptînd criptații cu Mg^{2+}, a cărui rază mică duce la formarea unor complecși cu pKa < 2, indiferent de mărimea macrociclului.

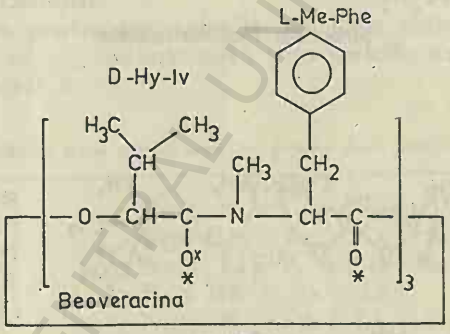
Înlocuirea atomilor de oxigen din diamine macrociclice cu atomi de sulf (3—V, VI, VII) este însoțită de modificarea pKa și a selectivității.

3.2.2.3. Antibiotice polipeptidice

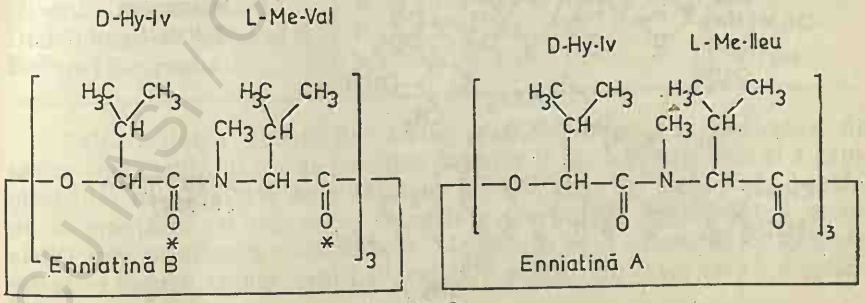
Proprietăți ionofore caracteristice și selective prezintă unele antibiotice naturale polipeptidice. Ele pot fi grupate, în funcție de structură, în două clase. Din prima clasă fac parte : valinomicina (3—IX-a), beoveracina (3—IX b) enniatina *A*, *B* (3—X), nonactina (3—XI), monactina



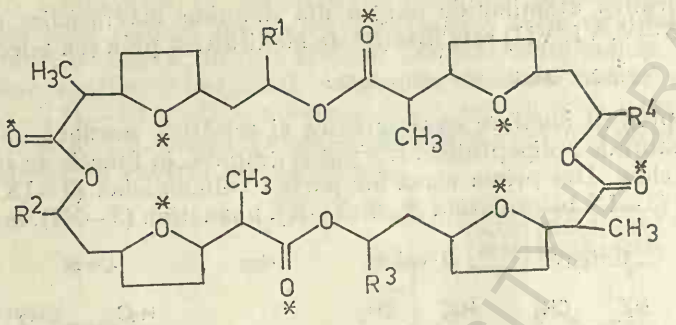
(3.IXa)



(3.IX b)



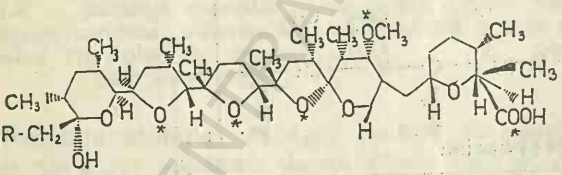
(3.X)



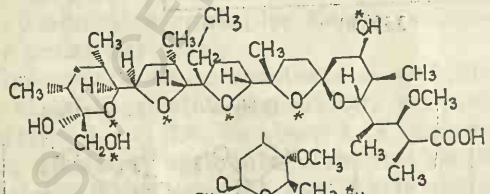
$R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = CH_3$ — Nonactina (3-XI)
$R^1 = R^2 = R^3 = CH_3$ — Monactina (3-XII)
$R^1 = R^3 = CH_3$ — Dinactina (3-XIII)
$R^1 = CH_3$ — Trinactina (3-XIV)
$R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = C_2H_5$ — Tetranactina (3-XV)

$R^4 = C_2H_5$
$R^2 = R^4 = C_2H_5$
$R^2 = R^3 = R^4 = C_2H_5$

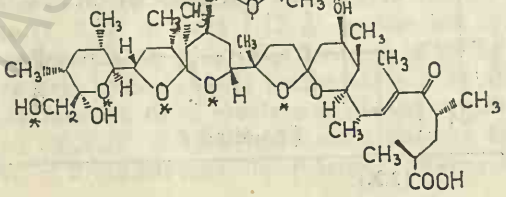
Structura Macrotetrolidelor



R:-OH NIGERICINA (3-XVI.) (=POLYETHERINA)
R:-H GRISORIXINA (3-XVII.)



MONENSINA (3-XVIII.)



DIANEMYCINA (3-XIX.)

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

(3—XII), dinactina, (3—XIII) trinactina (3—XIV) și tetranactina (3—XV), iar din clasa II-a: nigericina (3—XVI), grisorixina (3—XVII), monensina (3—XVIII) și dianemicina (3—XIX).

Antibioticele polipeptidice captează în centrul cavității macrociclului ionii metalelor alcaline formînd criptați, cu constante de stabilitate comparabile polieterilor. Valorile constantelor de stabilitate a criptaților unora din aceste antibiotice cu ionii metalelor alcaline, au fost determinate de Morf și col. (226 *a*).

Tendința ionilor metalelor alcaline de a forma criptați cu molecule macrociclice naturale variază în ordinea: $K^+ > Rb^+ > Cs^+ > Na^+ > Li^+$, care corespunde permeabilității crescute a acestora prin membrane. Valoarea constantelor de stabilitate ale complecșilor antibiotic — ion alcalin indică specificitatea ridicată a valinomicinei și a analogilor ei față de ionul K^+. În electrozi de membrană lichizi, utilizînd valinomicina ca transportor, specificitatea pentru ionul K^+, comparativ cu cel de Na^+, este de ordinul 10^4. Această proprietate scade foarte mult la utilizarea electrozilor înghețați, cînd mobilitatea moleculei dispare, ceea ce presupune că valinomicina și antibioticele similare nu acționează ca pori.

Selectivitatea pentru ionii alcalini ale unor molecule macrociclice naturale sau de sinteză, determinată prin metoda extracției, poate fi urmărită în tabelul 9.

Tabelu l 9

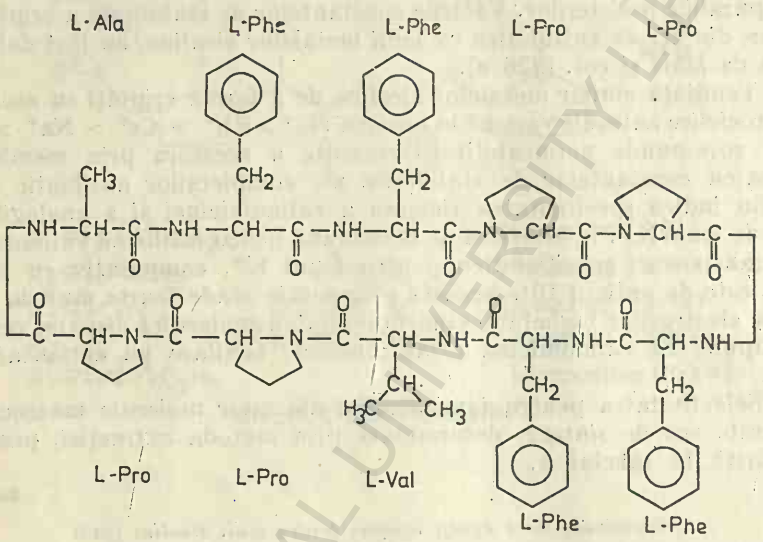
Selectivitatea unor agenți ionofori pentru ionii alcalini (343)

Valinomicina	: Rb > K > Cs > Na
Actine	: K > Rb > Cs > Na > Li
Antamanida	: Na > Li ~ K > Rb ~ Cs
Nigericina	: K > Rb > Na > Li
Monensina	: Na > K > Rb ~ Li
Dianemicina	: Na, K, Rb > Li
Dibenzo-18-coroană-6	: K > Cs > Na > Li
Diciclohexil-18-coroană-6	: K > Cs > Na > Li
Benzo-15-coroană-5	: Na > K > Cs > Li

Selectivitatea polieterilor ciclici este inferioară antibioticelor, din cauza coeficientului lor de partiție, inferior în faza membranei și a capacității lor mai limitate de învăluire a ionului metalic, protejîndu-l astfel, de interacțiuni cu solvenții. Selectivitatea polieterilor sintetici monociclici este inferioară celor biciclici. Polieterii cu 4 atomi de oxigen sînt selectivi pentru transportul Li^+, cei cu 5 pentru Na^+, iar cei cu 6 pentru K^+.

Antamanida (3—XX) este singurul produs peptidic ciclic cu selectivitate superioară pentru Na^+ comparativ cu K^+, iar actinele manifestă o selectivitate ridicată pentru NH_4^+.

ANTAMANIDA



(3.XX)

Rezistența membranei și potențialul de membrană depinde de natura moleculei transportoare și de cea a cationului, ele urmînd aceeași ordine ca și selectivitatea.

Structura complecșilor criptați ai ionilor metalelor alcaline cu molecule macrociclice naturale sau de sinteză a fost stabilită cu ajutorul spectrelor de raze X, a dicroismului circular (DRC), a RMN-ului și spectroscopiei în IR, mai ales asupra compușilor în stare solidă.

În complexul K^+-valinomicină (D-valină, acid D-α-hidroxivaleric, L-valina și ac. l-lactic) care are un ciclu de 36 atomi, cu 12 legături carbonil, ionul K^+ este hexacoordinat cu o lungime a legăturii de 2,8 Å ; comp exul are o structură de tip „football" (fig. 3.5).

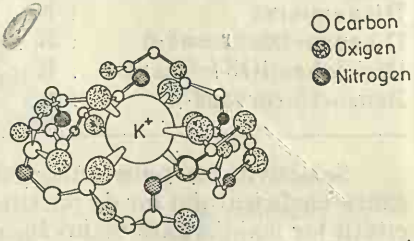


Fig. 3.5. — Structura complexului K^+ — valinomicină, [73 b].

Spectrul IR al valinomicinei și complexului său cu ionul K^+ în cloroform, indică existența, în medii slab polare, a unui echilibru conformațional între o formă care conține 6 legături de hidrogen intramoleculare, care este predominantă și o formă care dispune numai de 3 asemenea legături, a căror importanță crește la creșterea polarității mediului (fig. 3.6).

Structura complexului K^+-nonectină, cu un ciclu de32 atomi, număr de coordinare 8, lungimea legăturii furan 2,82 Å și a legăturii ceto 2,77 Å,

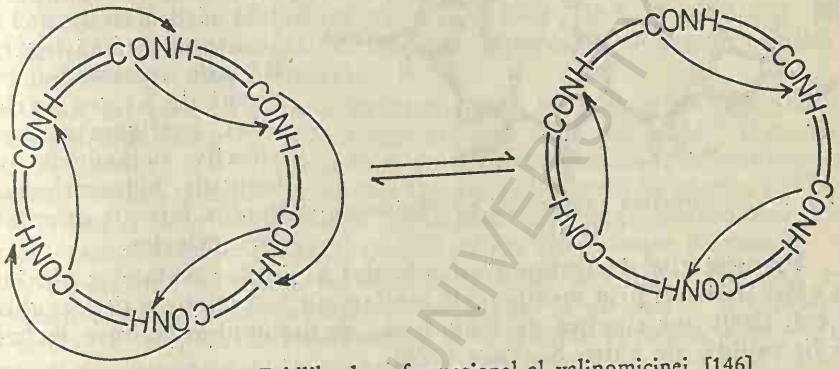


Fig. 3.6. — Echilibrul conformațional al valinomicinei, [146]

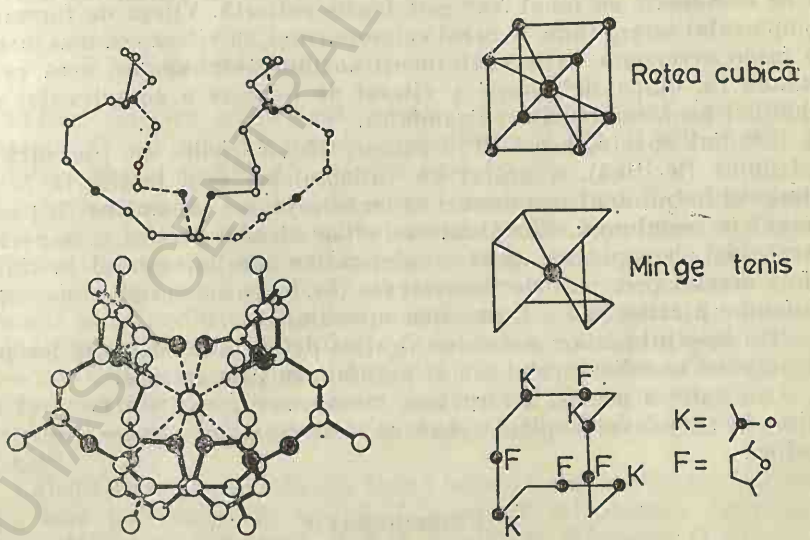


Fig. 3.7. — Structura complexului K+-nonactina, [163]

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

în care ligandul este astfel răsucit în jurul ionului de K^+, încît se aseamănă cu dunga unei mingi de tenis, este redată în fig. 3.7.

Se observă că 4 atomi de oxigen din ciclurile furanului și 4 din grupările carbonil interacționează cu ionul K^+ și formează o structură aproape cubică, cu grupările lipofile orientate spre exteriorul celulei.

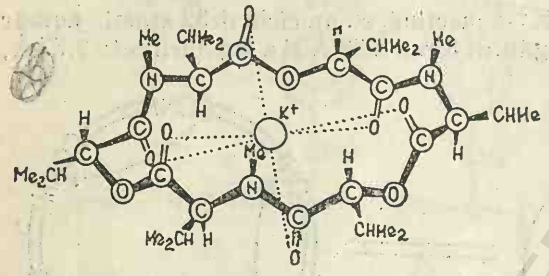


Fig. 3.8. — Structura complexului K+-enniantina, [128 a]

Structura complexului K^+-enniantină B (fig. 3.8), hexadepsipeptidă ciclică cu un inel de 18 atomi, indică legarea K^+ prin intermediul a 6 atomi de oxigen carbonilici, configurație aproximativ octaedrică, cu lanțurile hidrocarbonate lipofile laterale orientate spre exterior.

Proprietățile de transportori selectivi ai ionilor metalelor alcaline de către polieteri prin membranele celulare au fost studiate de Langhlin și col. (209), iar cinetica de schimb sau de decomplexare, care trebuie să fie rapidă, de către Sauvage (278).

În cazul agenților ionofori naturali, ca de exemplu nigericina, viteza sa de combinare cu ionul Na^+ este foarte ridicată. Viteza de formare a complexului corespunde, în cazul valinomicinei, cu viteza cea mai înceată de interconversiune între conformerii antibioticului singur, ceea ce înseamnă că, etapa definitorie a vitezei de formare a complexului este schimbul conformațional al ligandului.

Studiul spectroscopic al depsiopeptidelor ciclice în prezență de fosfolipide (lecitină), a arătat că valinomicina este localizată înspre interiorul hidrofob al membranei bistratificate, iar enniantina B, predominant în membrană. Complexarea ionilor alcalini are loc la suprafața membranei; complexul agent ionofor-cation alcalin, solubil în lipide, a fost decelat prin metode fluorescente (8). Locurile specifice de legare ale ionilor alcalini par a fi proteina membranei.

Transportul ionilor metalelor alcaline de către ionofori are loc prin mecanismul transportorului sau al porului sau prin ambele.

Cunoașterea precisă a structurii membranei constituie factorul hotărîtor în elucidarea deplină a naturii transportului ionilor metalelor alcaline.

BIBLIOGRAFIE

48, 73 b, 76, 82, 119, 146, 209, 226 a, 251, 251 a, 278, 311, 343, 364.

3.3. Metalele alcalino-pământoase

3.3.1. Generalități

Beriliul, magneziul, calciul, stronțiul, bariul și radiul, metale reprezentative așezate în grupa a II-a principală a sistemului periodic și cunoscute sub denumirea de alcalino-pământoase, au doi electroni de valență într-o orbitală *ns*, pe care îi cedează ușor, formînd cationii Me^{2+}, cu configurație de octet, $ns^2\ np^6$ exceptînd Be^{2+}: $(1s^2)$. Potențialul lor de ionizare și electronegativitatea sînt superioare metalelor alcaline, iar reactivitatea lor inferioară.

Ionii metalelor alcalino-pământoase sînt incolori, greu polarizabili și nehidratați, exceptînd cei cu raze atomice mici, Be^{2+}, Mg^{2+} și parțial Ca^{2+} și prezintă o tendință redusă de a forma combinații complexe și compuși organo-metalici, exceptînd liganzii polidentați, în special EDTA-ul. Beriliul și chiar magneziul se deosebesc de restul elementelor din grupă, asemănîndu-se cu Al, respectiv cu Zn, (asemănare diagonală).

Importanță biologică prezintă magneziul și calciul. Beriliul, cu aplicații largi în industria aliajelor rezistente la coroziune și solicitări mecanice, a lămpilor de fluorescență și în tehnica nucleară, este foarte toxic și produce, prin inhalarea pulberii, intoxicații profesionale cunoscute sub denumirea de „b e r i l i o z ă".

3.3.2. Calciul (Ca)

Calciul este un constituent esențial al organismului uman unde se găsește într-o concentrație de aproximativ 2 g% (1 200—1 400 g) la adult și numai de 0,92 g% la noul născut.

Distribuție și rol fiziologic. Cea mai mare cantitate de calciu, peste 98%, se găsește în țesutul osos, în schelet. Oasele sînt formate dintr-o componentă organică majoră, reprezentată în proporție de 95% prin colagen, scleroproteină cu structură tridimensională, care conține hidroxiprolina și hidroxilizina și o componentă minerală formată din cristale de hidroxiapatită, $Ca_5[(PO_4)_3OH]$ și de fosfat tricalcic amorf, depuși într-o anumită ordine în ochiurile plasei colagene. Calciul se mai găsește în lichidul extracelular, în concentrații de ordinul 10^{-3} M, în mușchi 0,3%, în rinichi 4—5 mmoli/kg țesut umed, în plasmă 9—11,5 mg% (4,5—5,75 mg Eq/l).

Calciul plasmatic se află sub formă ionizată, difuzabilă, aproximativ 65%, ceea ce corespunde la 5,9—6,5 mg/100 ml plasmă, neionizată, reprezentată prin complecși chelați, solubili și difuzabili (1,20 mg%) și sub formă legată de proteine și nedifuzabil (3,20 mg%).

În organism calciul are un rol plastic, fiind un component al oaselor, și un rol dinamic, participînd, sub formă de ioni Ca^{2+} la numeroase mecanisme vitale ca : menținerea integrității funcționale a sistemului nervos central și periferic, a membranei celulare, proces în care se găsește în antagonism cu ionii Na^+ și K^+, la coagularea sîngelui și menținerea stării coloidale a proteinelor, cofactor al unor enzime (lipază, fosfatază alcalină, colisterază, succindehidrogenază etc.).

Micșorarea conținutului calciului ionizat în lichidul extracelular este însoțită de o excitabilitate crescută a celulelor musculare și nervoase (tetanie calciprivă) și tulburarea funcției cardiace. Ionii Ca^{2+} reduc excitabilitatea neuromusculară scheletică și măresc contractibilitatea miocardului.

Conținutul calciului intracelular, de ordinul a 10^{-6}—10^{-7} M, este mult inferior celui extracelular și se găsește în cea mai mare parte sub formă complexată.

Modul de repartizare a calciului și valorile schimburilor, în g/zi, care au loc la adult (70 kg) poate fi urmărit, după Borle (28), în fig. 3.9.

Absorbție și eliminare. Absorbția calciului are loc în partea superioară a tractului intestinal, la nivelul intestinului subțire, mai ales în duoden,

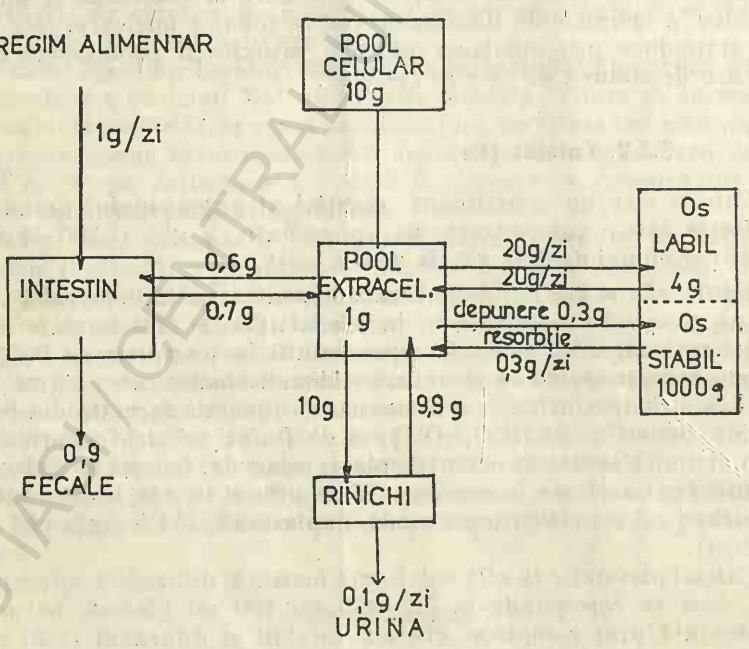


Fig. 3.9. — Distribuția și dinamica calciului în organism, [28]

înainte ca sucul pancreatic și biliar să producă alcalinizarea chimului alimentar. Absorbția sa este condiționată de natura compusului solubil sau insolubil sub care se găsește în alimente, de raportul Ca/P, cu valoare optimă 1,3—1,5, de concentrația acidului citric cu care formează chelați solubili și difuzabili prin peretele intestinal, precum și de gradul de saturare în calciu al organismului; micșorînd permeabilitatea membranelor, calciul existent în exces, devine un inhibitor al propriei sale absorbții.

Din cantitatea de calciu consumată zilnic prin aport alimentar, evaluată la 600—1 000 mg, numai 200—300 mg sînt absorbite; gradul de absorbție variază mult de la individ și scade odată cu vîrsta.

Absorbția intestinală a calciului este dependentă linear de rata sa de depunere în oase; ea este favorizată de lactoză, de săruri biliare, L-arginina, L-lizina, de prezența vitaminei D și nu pare a fi influențat de fosfați. În cazul sărurilor de calciu insolubile, aciditatea mediului favorizează absorbția, în timp ce alcalinitatea duce la precipitarea calciului și la micșorarea solubilității. Prezența în tractul intestinal a unor cantități mari de acizi grași neabsorbiți, îngreunează absorbția; ea este micșorată și prin diaree. Dintre sărurile de calciu, la om, lactatul are o absorbție superioară gluconatului.

Bilanțul calcic al organismului, adică diferența dintre cantitatea de calciu introdusă în organism și cea eliminată prin urină, fecale și transpirație, este echilibrat și egal cu zero la adultul normal, pozitiv la copii în creștere și negativ în cazurile de absorbție deficitară sau în cazuri patologice. Adaptarea organismului la aporturi scăzute de calciu se face pe seama pierderii prin fecale.

În organism există un echilibru dinamic între calciul din țesutul osos și calciul din lichidul extracelular, echilibru care nu este influențat de variațiile zilnice ale aportului alimentar. Stările de hipocalcemie sînt compensate printr-o resorbție osoasă și eliberarea calciului din schelet, iar cele de hipercalcemie prin creșterea depunerii de calciu în oase și eventual chiar în vase și țesuturi moi. De altfel schimburile care au loc între osul labil și spațiul extracelular (20 g/zi) corectează prompt stările de hiper sau hipocalcemie.

Resorbția osoasă și eliberarea calciului din schelet în circulație, menținînd calcemia în spațiul extracelular în limite fiziologice, este reglată de către hormonul paratiroidian, de către calcitonină, hormon hipocalcemiant, de natură polipeptidică, format din 32 aminoacizi, terminat în prolinamidă, cu o punte disulfidică 1—7 la capătul terminal amino, avînd o masă moleculară de 3 000. Există dovezi că hormonul paratiroidian (PTH) stimulează resorbția osoasă printr-un proces enzimatic complex, micșorează excreția de calciu și, împreună cu vitamina D, promovează absorbția calciului alimentar din intestinul gros. Pe

de altă parte calcitonină, hormon hipocalcemiant, secretat de celulele parafoliculare ale tiroidei, inhibă resorbția osoasă.

Eliminare de calciu se face prin fecale în proporție de 60—80% mai ales sub formă de $Ca_3(PO_4)_2$ și prin rinichi, în proporție de 20—40%. Există o relativă dependență a excreției calciului față de ingestia lui. Dietele hipocalcice duc la o scădere a calciului urinar iar cele hipercalcice la o creștere a calciuriei la persoane normale. Diete bogate în hidrați de carbon, proteine, ingestia de sare, scăderea fosforului alimentar și micșorarea absorbției lui intestinale prin ingestie de hidroxid de aluminiu, acidoză metabolică, provoacă o creștere a calciuriei. În schimb, reducerea ingestiei de magneziu și creșterea conținutului de fosfor în alimente, duce la o micșorare a calciuriei.

Pragul renal de eliminare a calciului este cuprins între 6,5—8,5 mg% plasmă, de unde trecerea sa în urină este condiționată de nivelul calciului plasmatic. La niveluri superioare se excretă, iar la cele inferioare ionul Ca^{2+} este complet reasorbit.

Diureticele mercuriale măresc excreția renală a calciului și sodiului, în timp ce clorotiazidele o micșorează; acidul etacrinic produce o creștere paralelă a cleranceului calciului și sodiului, iar furosemida inhibă mai mult resorbția calciului comparativ cu cea a sodiului.

Calciul se mai elimină prin sudoare, în cantități de aproximativ 150 mg/zi, în condiții de temperatură normală.

Calciul în alimentație. Deoarece absorbția și excreția calciului variază destul de mult, nu se cunoaște cantitatea optimă necesară ingerării pentru om. Date prezentate de F.A.O. (1) indică rații de 400—500 mg/zi calciu la un aport vitaminic corespunzător. Pentru copii, rația este mai mare, mai ales la cei nealăptați (500—600 mg/zi) și la cei între 10—15 ani, 600—700 mg/zi.

Cele mai importante surse de calciu sînt laptele, caşul și pîinea. O alimentație mixtă cu lapte și produse lactate normale, corespunde unui aport constant de calciu necesar organismului.

3.3.3. Magneziul (Mg)

În fiziologia normală a organismului, magneziul are un rol deosebit de complex și de important; este un element esențial vieții cu cea mai largă răspîndire, 54 mM/l în apă mărilor și oceanelor.

Distribuție și rol fiziologic.

Magneziul este un constituent normal al organismului uman, unde se găsește în concentrație de 29 g/70 kg = 24 000mEq; cele mai mari cantități se găsesc în schelet (60%), în spațiul intracelular, 10^{-2} M comparativ cu spațiul extracelular 10^{-3} M, în plasmă 1,2—3,2 mEq/l, eritrocite 4—6 mEq/l, în mușchi aproximativ 18 mEq.

În organism, magneziul se găsește sub formă difuzabilă 80%, legată de proteine și nedifuzabilă 20%.

Magneziul, alături de Ca^{2+}, Na^{+} și K^{+} are un rol fundamental în conducția electrică a pulsațiilor inimii și în contractibilitatea celulelor cardiace. Carența de Mg^{2+} și de K^{+} favorizează apariția aritmiilor și fenomenelor toxice la digitalice (362). Magneziul intervine într-o mulțime de procese metabolice, nervoase, sanguine, viscerale, activează multe enzime, participă la reglarea metabolismului glucidic, lipidic, protidic, la procese de creștere și de permeabilitate celulară. Are o acțiune antialergică și antispastică și un rol important în eliberarea și transferul ionilor fosfat, reacții care necesită în cea mai mare parte prezența ATP în fosforilarea oxidativă, în sinteza acizilor nucleici, în sinteza proteinelor, în contracția musculară, în transmiterea influxului nervos și în fenomene de transport activ (11). În același timp, magneziul este indispensabil ADN-polimerazei I, care intervine în reconstituirea și recombinarea ADN ca și ARN-polimerazei, enzimă esențială în transcrierea ADN (145).

Activează procesul specific de adenilare enzimatică a acizilor aminați, realizînd esterificarea ARN de transfer (336), conform fig. 3.10.

$$\text{Acid aminat} + \text{ATP} \underset{\text{enzimă}}{\overset{Mg^{2+}}{\rightleftharpoons}} \text{Amino-acil-AMP} + \text{pirofosfat anorganic.}$$

$$\text{Amino-acil-AMP} + \text{ARN} \underset{\text{enzimă}}{\rightleftharpoons} \text{Amino-acil-ARN} + \text{AMP}$$

Fig. 3.10. — Rolul magneziului în activarea acizilor amniați 188]

Fiecare acid aminat are o enzimă activatoare specifică și unul sau mai multe specii de ARN de transfer; Mg^{2+} este necesar stadiului inițial al reacției de sinteză a ARN și formării unui amino-acil-adenilat; se pare că nu este indispensabil fazei a doua, esterificarea specifică a t-ARN.

În concentrații bine definite, magneziul, este necesar menținerii integrității ribozomilor, la recunoașterea codonilor nereductanți de către amino-acil t-ARN și la declanșarea traducerii m-ARN-ului.

Un rol important are magneziu în fotosinteză. Pigmenții clorofilieni sînt complecși ai Mg^{2+} cu un ciclu porfirinic asemănător hemoglobinei, care au proprietatea de a capta energia fotonilor pe care o folosesc la fixarea CO_2 și eliberarea O_2.

Absorbție și eliminare. Magneziul este prezent în cantități mici aproape în toate alimentele, conținutul său fiind mai scăzut în regiuni industrializate comparativ cu cele neindustrializate. Într-un regim alimentar mixt, bogat în produse de origină animală, proporția Mg disponibil este de 30—40%. (293). Se estimează că un adult are nevoie de

Afinitatea foarte mare a mitocondriilor față de calciul ionizat (liber), duce la micșorarea concentrației acestuia în spațiul din afara lor, pînă la o concentrație extrem de mică, de ordinul a 10^{-6} M. Specificitatea mitocondriilor din ficatul de șobolan de a acumula preferențial calciu față de magneziu, duce la modificarea efectivă a raportului Mg^{2+}/Ca^{2+} în citoplasmă.

Reglarea concentrației calciului în celule este influențată de aceiași hormoni care acționează și reglarea calciului plasmatic. Astfel, hormonul paratiroidian și calcitonina joacă un rol semnificativ în transportul calciului prin membrana celulară prin intermediul „transportorului" Ca-ATP-ază; în reglarea concentrației calciului intracelular este implicat și AMP-ciclic.

În fig. 3.11 se poate urmări modul de reglare a homeostaziei calciului extracelular, de către hormoni, iar în fig. 3.12 modul în care modificarea concentrației calciului intracelular duce la modificarea variațiilor raportului Mg^{2+}/Ca^{2+} în citoplasmă.

Modificarea echilibrului Mg^{2+}/Ca^{2+} în organism este însoțită de apariția unor stări patologice, ca de ex. calcifierea, indusă de un aport alimentar crescut în calciu, sau redus în magneziu sau de producerea hipervitaminozei D. Efectele toxice induse în sisteme biologice de unele metale grele reflectă adesea interacțiuni ale metalului toxic cu ionii Ca^{2+} și Mg^{2+} la locurile lor de legare ale acestora în celule. Astfel

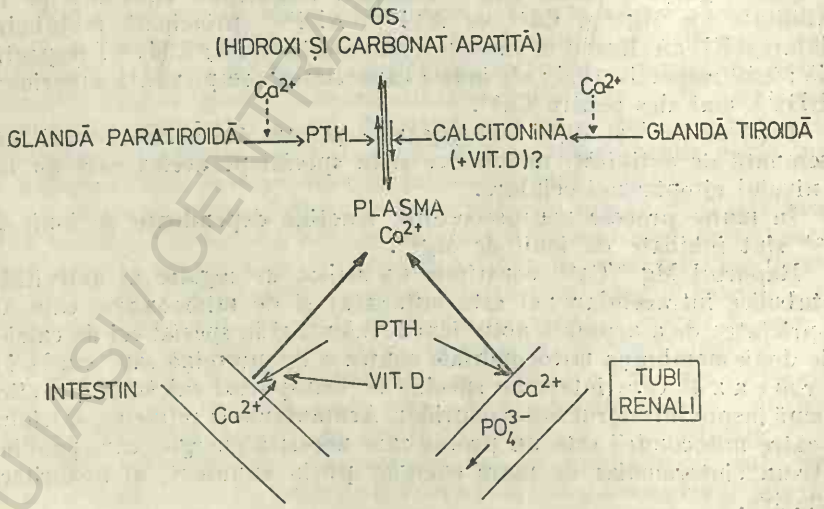


Fig. 3.11. — Schema de reglare a homeostaziei calciului extracelular de către hormoni, [343]

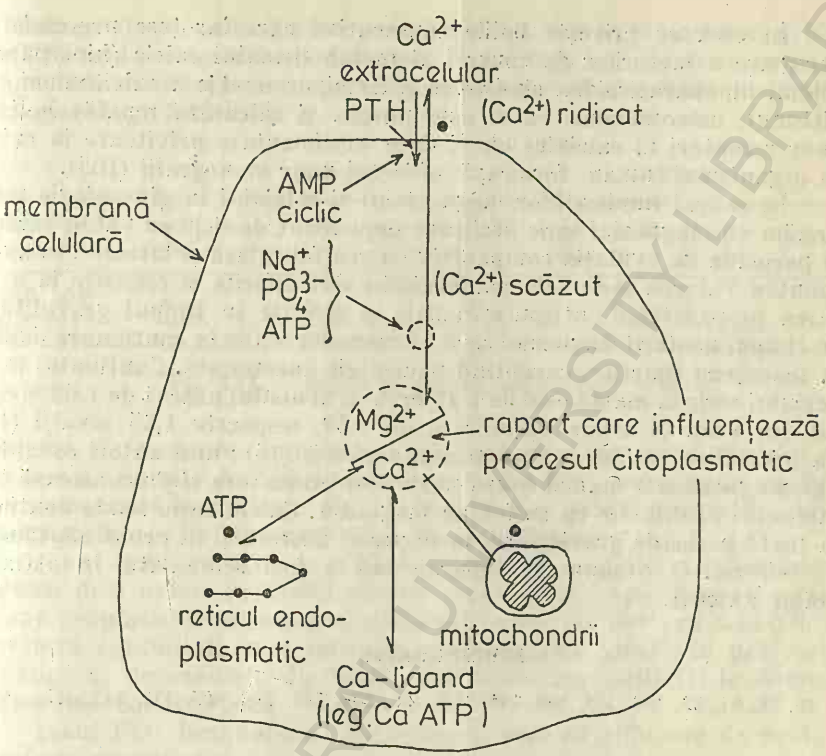


Fig. 3.12. — Concentrația Ca^{2+} intracelular și variațiile Mg^{2+}/Ca^{2+} în citoplasmă, [343]

Pb(II), Zn(II) și Cu(II) influențează în mare măsură reacțiile mitocondriilor izolate, care au loc cu consum de energie. Interacțiunea Pb(II) cu centrii de legare ai Ca^{2+} explică efectele antagoniste ale acestor două elemente în diferite procese celulare. În mod analog, incapacitatea mitocondriilor celulelor tumorale de a menține efectiv raportul Mg^{2+}/Ca^{2+} în diversele compartimente celulare, ar putea explica unele leziuni metabolice ale acestora, observate în celulele canceroase. Așa de ex. mitocondriile celulelor tumorale ale ascitei Ehrlich, deși acumulează ușor calciul în cadrul unui proces dependent de energie, ele sînt incapabile de a-l elibera în mod normal, ceea ce duce la o creștere peste normal a raportului Mg^{2+}/Ca^{2+} în citoplasmă și la creșterea cu o viteză mare, „necontrolată" a proceselor metabolice localizate în citoplasmă, dependente de magneziu și inhibate de calciu, ca de ex. glicoliza și forma membranei (343).

În ceea ce privește bolile consecutive care însoțesc procesele de dereglare a factorilor de control ai metabolismului calcic (hiperparatiroidia, hipoparatiroidia, sindroamele de hipersecreție a calcitoninei, rahitismul, osteomalacia, ca și osteoporoza și calculoza renală), boli ale unor receptori ai calciului cît și date suplimentare privitoare la calciu în organismul uman formează obiectul unor monografii (105).

În cadrul implicațiilor magneziului și calciului în ginecologie menționăm că magneziul seric oscilează dependent de ciclu cu valori scăzute în perioada de ovulația comparativ cu cea foliculară și luteală : în avort spontan valorile serice ale magneziului sînt diferite și crescute la utilizarea preparatelor anticoncepționale și scăzute în timpul gravidității. În timpul nașterii magneziul seric al mamelor scade în continuare ducînd la fenomene spastice, exceptînd pacientele anesteziatè. Conținutul magneziului seric la mamă este de 1,41 mval/l, al noului născut de 1,68 mval/l cel din vena și artera ombilicală de 1,59, respectiv 1,65 mval/l (16). La prematuri se observă o hipomagneziemie (16) ; unii autori consideră hipomagneziemia mamei cauza nașterilor premature și preconizează tratamentul profilactic cu sulfat de magneziu. Calciu seric scade continuu în toată perioada gravidității, în decursul nașterii și în prima săptămînă de lehuzie. O pronunțată hipocalcemie a fost semnalată în asfixiile noilor născuți.

BIBLIOGRAFIE

16, 28, 81, 82, 103, 105, 109, 145, 165, 188, 226, 249, 299, 305, 336, 343, 362, 364

3.4. Fierul (Fe)

3.4.1. Generalități

Fierul, element tranzițional de tip d, situat în grupa a VIII-a perioada a 4-a, cu configurația electronică exterioară : $3d^6\ 4s^2$, este după oxigen, siliciu și aluminiu, cel mai răspîndit element în scoarța terestră, unde se găsește sub formă de oxizi, sulfură, carbonat și silicați, greu disponibili și asimilabili pentru plante din cauza solubilității lor reduse.

Fierul formează compuși cu numere de oxidare variabile de la zero la +6, compușii Fe(II) și Fe(III), simplii și complecși, fiind cei mai importanți.

Ionul Fe^{2+} ($3d^6$), la limita caracterului de acid „dur" și „moale" și ionul Fe^{3+} ($3d^5$), acid dur (p. 14), sînt paramagnetici și manifestă o tendință însemnată de a forma combinații complexe cu spin jos (minim),

hibridizare d^2sp^3, diamagnetici pentru Fe(II), slab paramagnetici pentru Fe(III), sau cu spin înalt (maxim) hibridizare sp^3d^2, puternic paramagnetici, în funcție de natura liganzilor, cu rol important în mediile biologice (fig. 3.13).

	Fe^{2+}	Fe^{3+}
Spin înalt (maxim)	$\underline{\uparrow\downarrow}\ \underline{\uparrow}\ \underline{\uparrow}\ \underline{\uparrow}\ \underline{\uparrow}$	$\underline{\uparrow}\ \underline{\uparrow}\ \underline{\uparrow}\ \underline{\uparrow}\ \underline{\uparrow}$
Spin jos (minim)	$\underline{\uparrow\downarrow}\ \underline{\uparrow\downarrow}\ \underline{\uparrow\downarrow}\ \underline{\ }\ \underline{\ }$	$\underline{\uparrow\downarrow}\ \underline{\uparrow\downarrow}\ \underline{\uparrow}\ \underline{\ }\ \underline{\ }$

Fig. 3.13. — Stările de spin ale ionilor Fe^{2+} și Fe^{3+}

Așa de exemplu, transferina, proteină de transport a fierului din ser, are o afinitate de 27 ori mai mare pentru Fe^{3+}, comparativ cu Fe^{2+}, din care cauză complexul Fe(III)-transferină este deosebit de stabil, comparativ cu Fe(II)-transferină, ușor oxidabil.

Ionul Fe^{3+}, cu raza de 0,67 Å, manifestă o afinitate mare pentru liganzi duri avînd ca atomi donori oxigenul ca : apa, anionii oxalat, citrat, grupările tirosil, aspartil, glutamil, în timp ce Fe^{2+}, cu raza 0,83 Å, prezintă o afinitate mai ridicată pentru liganzi „moi" ce pot forma legături π, de exemplu dipiridilul, o-fenantrolina, utilizați la determinarea lui colorimetrică.

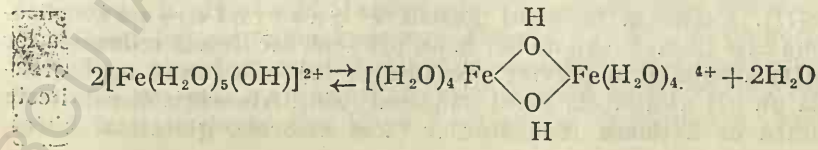
Ionul Fe^{3+} hexahidratat hidrolizează ușor cu eliberare de protoni, conform reacțiilor :

$$Fe^{3+} + 6H_2O \rightarrow [Fe(H_2O)_6]^{3+} \rightleftarrows [Fe(H_2O)_5(OH)]^{2+} + H^+$$

$$[Fe(H_2O)_5(OH)]^{2+} \rightarrow [Fe(H_2O)_4(HO)_2]^{+} + H^+$$

pK a primelor două constante de hidroliză ale ionului Fe^{3+} au valorile 2,2 respectiv 3,3 în timp ce pK_a a ionului $[Fe(H_2O)_6]^{3+}$ este de 9,5.

Ionul $[Fe(H_2O)_5(OH)]^{2+}$ formează ușor compuși polimeri, în care ionii Fe^{3+} sînt uniți prin punți de hidroxil sau de oxigen, deosebit de stabili și insolubili, cu mase moleculare pînă la 150 000, structură sferică și diametru de 70 Å.



Din această cauză ionul Fe^{3+} poate fi menținut în mediu neutru sau alcalin într-o formă solubilă, absorbabilă de organism, numai în prezența unor agenți chelatori puternici, EDTA, acid citric, aminoacizi, proteine. Reactivitatea și disponibilitatea ionului metalic este dependentă, în mare măsură, de modul său de legare.

Fierul este un element esențial organismelor vii, implicat în transportul oxigenului în țesuturi și în mecanismele oxidative celulare. Prezent în cantități de 50 mg și 30 mg/kg corp la bărbați, respectiv la femei (2—5 g la adultul normal) fierul se găsește într-o proporție de aproximativ 2/3 sub formă de hemoglobină în hematiile circulante, 4% în mioglobină, 0,2% în enzimele hemice, 0,12% legat de transferină și circa 25% depozitat sub formă de feritină și hemosiderină. În funcție de modul de legare al fierului de proteine, complecșii fier-proteină pot fi clasificați în trei grupe : hemoproteine, proteine fier-sulf și fier-proteinele. În hemoproteine, fierul este incorporat într-un sistem de patru inele tetrapirolice legate de proteine, de ex. : mioglobina, hemoglobina, citocromul C și enzimele citocromoxidaza, catalaza și peroxidaza.

În proteinele fier-sulf, fierul este legat de liganzi cu sulf care includ resturile cisteinice ale proteinelor; ele participă la o varietate de reacții oxido-reducătoare.

În fier-proteine legarea lui se face de anumite locuri ale unor resturi de aminoacizi, de exemplu : tranasferina și aconitaza, (enzimă din ciclul acidului citric).

3.4.2. Metabolism

3.4.2.1. Absorbția

Absorbția fierului este dependentă de starea fiziologică a mucoasei gastro-intestinale, starea de sănătate și vîrsta individului, cantitatea și forma îngerată, precum și de factori alimentari. Absorbția este maximă în duoden și în porțiunea superioară , a jejunului, scade în segmentele succesive ale intestinului gros fiind redusă în ileon și nulă în colon. Cantități mici, puțin importante din punct de vedere fiziologic, sînt absorbite de mucoasa gastrică. Maximul absorbției are loc după 4—8 ore de la îngerare.

Absorbția fierului se face numai sub formă ionizată a sărurilor cu Fe(II). Existența în sucul gastric a g a s t r o f e r i n e i, glicoproteină care fixează ionii de fier la un pH acid, facilitează reducerea lor la Fe(II) asimilabil și previne precipitarea lor, sub formă neabsorbabilă, la un pH alcalin din sucul duodenal (260). Absorbția fierului este favorizată de acțiunea reducătorilor (acid ascorbic, glutation, cistei-

nă, grupări tiolice ale proteinelor și peptidelor) și alți reducători existenți în alimente.

Aciditatea gastrică favorizează absorbția prin creșterea proporției Fe(II) absorbabil din alimente ca urmare a ruperii legăturilor chelate care complexează fierul alimentar. Persoane neanemice cu aclorhidrie absorb cantități suficiente de fier, aclorhidria completă nefiind însoțită de inhibiția absorbției. În schimb în atrofia mucoasei gastrice apar semne de carențe în fier, iar administrarea HCl ameliorează absorbția fierului.

Fierul anorganic formează complecși cu constituenții sucului gastric, care rămîn solubili la creșterea pH-ului în intestin, menținîndu-l în stare favorabilă absorbției. Histidina și lizina mărește absorbția fierului ca urmare a formării unor complecși chelați.

Acidul fitic, fitații, fosfații, lactații, oxalații, substanțe alcaline ca muccina, hidroxidul de aluminiu, de magneziu, carbonatul de calciu, micșorează absorbția, deoarece formează compuși greu solubili. Biomolecule complexoformatoare, ca de exemplu zaharurile, mărește mult absorbția fierului, deoarece favorizează formarea unor complecși chelați solubili și împiedecă astfel formarea unor polimeri inerți ai hidroxidului de fier (III). În cazul fructozei, de exemplu, se formează complexul solubil, [Fructoză fier(III)$_2$O], ușor asimilabil, care se găsește în echilibru cu alți compuși polimeri reactivi.

În cazul în care concentrația complecșilor fierului cu glucidele alimentare este ridicată, pot avea loc dereglări ale mecanismului normal de metabolizare al acestuia, cu depozitarea lui în cantități mari în ficat. Astfel, la populația de culoare a tribului Bantu—Africa, incidența siderozei hepatice, cauzată de pregătirea în vase de fier a pastei de porumb, bogată în glucide, este ridicată. O acumulare mare a fierului se întîlnește și la alcoolicii care utilizează vinul dulce cu conținut ridicat în glucide.

Sărurile de zinc, cupru, cadmiu, mangan, îngerate în cantități mari, interferează absorbția fierului prin competiție, cu părțile de legare cu proteinele din mucoasa intestinală.

După Settlemire și col. (300) zincul reduce absorbția fierului prin interferența încorporării, a eliberării lui din feritină sau prin scurtarea timpului de viață al globulelor roșii ale sîngelui.

Fierul alimentar intră în tractul gastro-intestinal complexat cu o varietate de liganzi și biomolecule; mulți din acești complecși sînt descompuși la pH-ul acid al stomacului cu formarea unor noi complecși.

Fierul îngerat alimentar este absorbit numai în proporție de 10—15%; absorbția este micșorată la supraîncărcarea organismului în fier, cînd cea mai mare cantitate este reținută de membrana celulelor epiteliale intestinale, care după 2—3 zile se descuamează, iar conți-

nutul lor în fier este excretat. Absorbția fierului este crescută la 20—60% în cazuri de deficiență în fier (creștere, sarcină, alăptare, hemoragii, anemii, ciroză. insuficiență hepatică etc.), fiind maximă în anemiile feriprive.

Absorbția fierului este direct proporțională cu nevoile individuale ale organismului și nu depinde de rata eliminării. La nevoi crescute, fierul se absoarbe peste normal, iar la supraîncărcare, absorbția este redusă, în ultimul caz se pare că are loc blocarea mucoasei intestinale care se opune la o absorbție ulterioară.

Deoarece nevoile zilnice în fier ale indivizilor normali sînt date de cantitățile care trec în sînge, iar fierul alimentar este numai parțial asimilabil, el trebuie să se găsească în cantități de 10 ori mai mari decît cele necesare organismului.

După recomandările grupului mixt de experți ai FAO/OMS în vitamine și substanțe minerale (358), cantitatea de fier absorbită necesară organismului uman în funcție de vîrstă și de tipul regimului alimentar, se poate urmări în tabelul 10.

Tabelul 10

Cantități de fier recomandate de FAO/OMS, zilnic (358)

Fe necesar absorbit (mg)		Cantități recomandate după tipul regimului. Valori minime de 10 la peste 25% provenite din regim alimentar de origine animală (mg)		
		10%	10—25%	25%
Sugari 0—5 luni	0,5	a	a	a
5—12 luni	1,0	10	7	5
Copiii 1—12 ani	1,0	10	7	5
Adolescenți 13—16 ani	1,8	18	12	9
Fetițe 13—16 ani	2,4	24	18	12
Femei	2,8	28	19	14
Bărbați	0,9	9	6	5

a: alăptatul este considerat suficient.

Pentru femeile neînsărcinate sînt recomandate aceleași cantități ca și pentru bărbați. În prima perioadă a sarcinei se recomandă 0,8 mg și apoi 3,0 mg. În timpul alăptării 1,0 mg este suficient dacă rezervele inițiale în fier au fost suficiente (aproximativ 500 mg).

Fierul medicamentos este foarte bine absorbit sub formă de fumarat, gluconat, citrat și mai puțin sub formă de sulfat, pirofosfat fier redus; o absorbție foarte redusă prezintă Fe_2O_3, $FePO_4$, $FeCO_3$.

În ceea ce privește mecanismul de absorbție al fierului el nu este pe deplin elucidat, celulelor epiteliale intestinale revenindu-le un rol important. De asemenea, formarea unor complecși chelați, solubili, cu masă moleculară mică prezintă importanța deosebită în transportul pasiv al fierului în sînge. În fig. 3.14 se poate urmări absorbția digestivă a fierului după Helbock și Saltman (128), iar în fig. 3.15 după Gregoire (110).

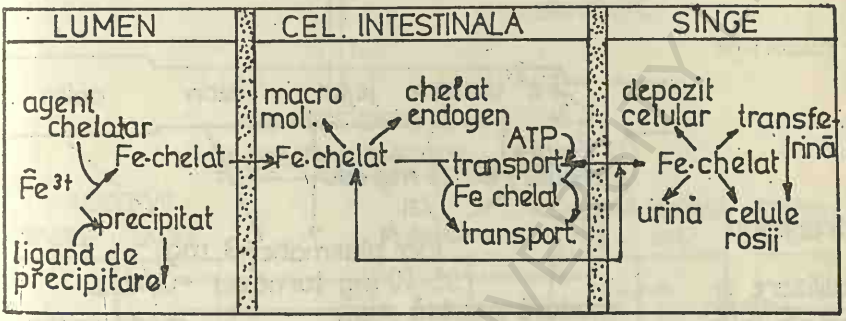


Fig. 3.14. — Absorbția digestivă a fierului, [128]

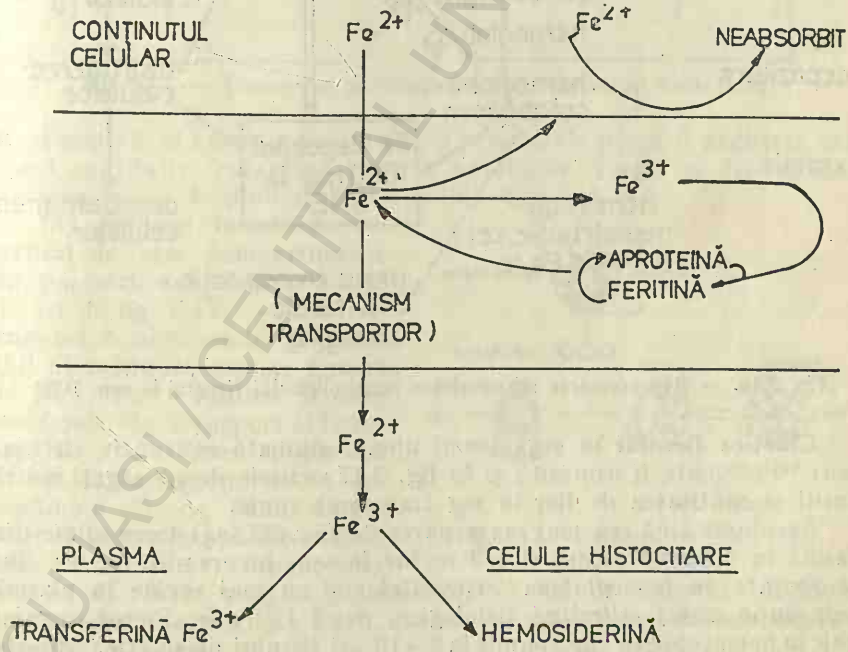


Fig. 3.15. — Absorbția digestivă a fierului, [110]

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În organism, fierul absorbit este în mare măsură redistribuit continuu în numeroase circuite metabolice dintre care ciclul : plasmă → → măduvă osoasă → eritrocite → plasmă este cel mai important sub aspect cantitativ. Alte circuite metabolice ca : plasmă → feritină și hemosiderină → plasmă și plasmă → mioglobină și fier-enzime → → plasmă, indică legătura fierului plasmatic în ciclurile de metabolizare ale fierului, reprezentate schematic în fig. 3.16.

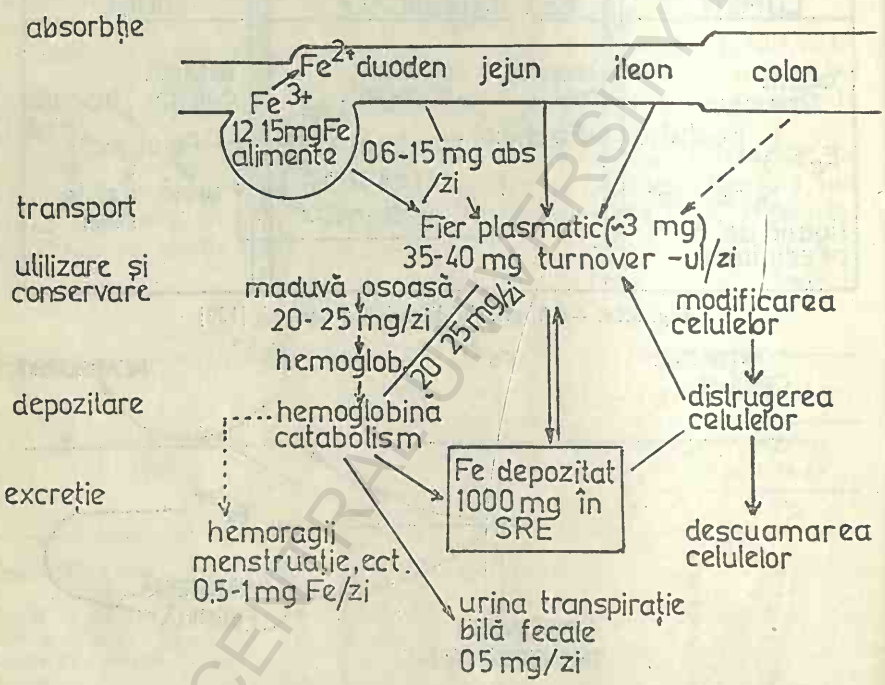


Fig. 3.16. — Reprezentarea schematică a metabolismului fierului la om, [328]

Cinetica fierului în organismul uman, studiată cantitativ cu ajutorul ^{59}Fe, poate fi urmărită și în fig. 3.17 ; cifrele de pe săgeți indică sensul și cantitatea de fier în mg transferat zilnic.

Se observă că cea mai mare parte de fier (32 mg) trece zilnic din plasmă în măduvă osoasă și 1/3 revine în sens invers ; 21 mg Fe sînt încorporate în hemoglobina eritrocitelor și nu mai revine în plasmă decît după ciclul *eritrolizei* fiziologice, după 120 zile. Fierul angajat zilnic în hematopoeză corespunde la 8—10 ori fierului plasmatic. Absorb-

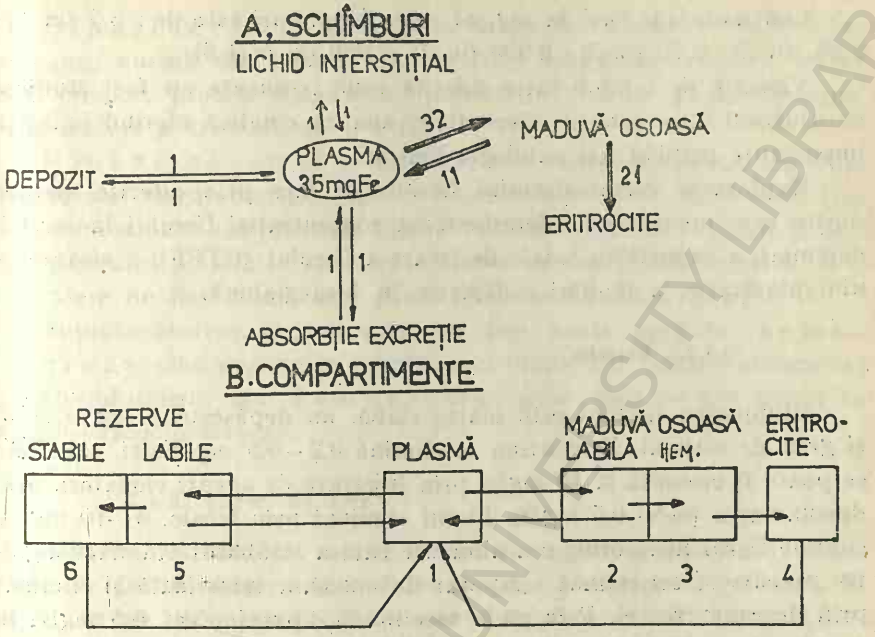


Fig. 3.17. — Transportul și compartimentele fierului in vivo, [110]

ția digestivă și excreția prin urină și prin fecale poate fi neglijată sub aspect cantitativ, exceptînd cazurile patologice. Fierul se depozitează în organism ca feritină și hemosiderină fig. 3.18.

În organism, fierul este repartizat în șase compartimente sau pool-uri, așa cum se poate urmări în fig. 3.17. — Compartimentul 2 corespunde poo-ului labil al măduvei osoase, format din Fe^{2+}, Fe^{3+}, feritină și diferite forme de transport al fierului. El poate trece în plasmă (1) sau să se încorporeze în hemoglobină (3), de unde numai poate fi restituită plasmei decît prin intermediul eritrocitelor (pool-ul 4). Între pool-ul plasmei (1) și cel al rezervei stabile a fierului este intercalat pool-ul 5, al rezervei labile a fierului sub diferite forme de transport.

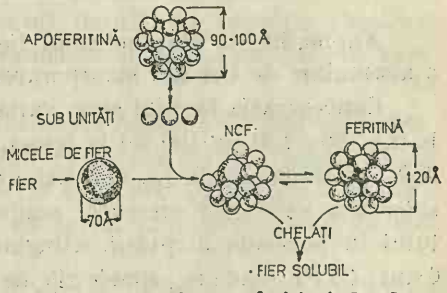


Fig. 3.18. — Sinteza feritinei, [243]

Conținutul de fier, în mg, al celor 6 pool-uri este de : 3,5 (în 1) ; 1,85 (în 2) ; 2,30 (în 3) ; 2 900 (în 4) și 950 (în 5 și 6).

Vitezele de schimb între diferite compartimente au fost studiate cu ajutorul unor ecuații diferențiale, analiza cinetică oferind indicații importante privind fiziopatologia fierului.

Explorarea metabolismului fierului se face prin diferite metode dintre care menționăm : determinarea concentrației fierului în ser (sideremia), a capacității totale de fixare a fierului (CTFF), a clearance-ului plasmatic, a fierului radioactiv în hemoglobină.

3.4.2.2. Excreția

Eliminarea fierului este foarte slabă, nu depășește 1 mg/zi (156) și greu de estimat. Prin urină se elimină 0,2—0,5 mg Fe/zi, cantitate ce poate fi crescută la 10 mg/zi prin injectare de agenți chelatori, prin descuamarea pielei 0,5 mg/zi. Fierul eliminat prin fecale, 0—10 mg/zi, conține fierul neabsorbit din alimente care a străbătut traiectul digestiv precum și cel reținut temporar de mucoasa intestinală și eliminat prin descuamarea ei. Prin piele se elimină aproximativ 0,5 mg/zi în funcție de individ, de conținutul celular al fierului, de temperatură. Majoritatea femeilor pierd între pubertate și menopauză 0,5—0,8 mg Fe/zi (328).

3 4 2 3. Anomalii ale metabolismului fierului

Anomaliile în metabolismul fierului pot fi însoțite de un deficit, o acumulare de fier sau încorporarea lui deficitară în hemoglobină.

Concentrația fierului seric variază între 90—140 μg/100 ml la bărbați și 80—130 μg/100 ml la femei, iar transferina (CTFF) între 300—360 μg/100 ml (260). La noii născuți în primele 5—8 zile de la naștere sideremia este ușor crescută, scade apoi sub valorile medii ale adultului în perioada alăptării, atingînd aceste valori în jurul vîrstei de 6 ani ; CTFF scade în primele zile de naștere și crește la valori superioare adultului în timpul alăptării. La gravide crește în primele săptămîni și scade în ultimele luni de sarcină, scădere însoțită de o creștere a CTFF ; utilizarea anticoncepționalelor orale steroidice este însoțită de o creștere moderată a sideremiei și a CTFF (260).

Hiposideremii se întîlnesc în anemii feriprive sau posthemoragice, anemii din infecții cronice, stări infecțioasec cronice, nefropatii cronice, procese neoplazice, poliartrită cronică și sînt însoțite de o scădere a transferinei și a CTFF.

Hipersideremii se întîlnesc în anemiile aplastice, anemiile hipercrome megaloblastice (de tip Biermer), anemiile siderio-elastice și în hemocromatoze primare. Ele se datoresc încetării captării și utilizării fierului plasmatic de către măduva osoasă și sînt însoțite de o acumulare de fier în depozite și de scăderea ușoară a CTFF.

Supraîncărcarea organismului cu fier poate produce hemosideroza cînd depunerea fierului este limitată la celulele sistemului reticuloendotelian, sau hemocromatoza cînd ea are loc și în celulele parenchimatoase.

3.4.3. Surse de fier

Alimente cu conținut ridicat în fier, în mg/100 g substanță, se întîlnesc în ficatul de porc 19,0, de vacă 5,4, rinichi, inimă, gălbenuș de ou 7,1, cacao 12,5, melasă 6,7, morcovi 6,0, pîine, cartofi, struguri 3,0, fructe proaspete 6,5, ciuperci 17,3 (156, 328, 322).

Un conținut inermediar de fier se întîlnește în: mușchi, pește, carne de vacă 2,5, de porc 3,0, nuci 3,1, făină integrală.

Laptele și produsele lactate, zahărul, pîinea, orezul, fructele, cartofii constituiesc surse normale de fier (156, 328, 322).

Fierberea în apă reduce conținutul fierului în vegetale (legume) la peste 20% (156, 322, 328), iar germinarea și măcinarea, pe cele existente în semințe.

Conținutul în fier al plantelor leguminoase variază între 200—300ppm, la produs uscat, gramineele 100—250 ppm, cartofii 40 ppm, sfecla 25—75 ppm, făină de oase și de pește 400—600 ppm (130, 156, 328).

Conținutul Fe în lapte variază cu specia animală, stadiul de lactație și alimentație (322).

Laptele uman, de vacă și capră conțin valori apropiate 0,3—0,6 μg/ml (167, 328), cel de scroafă în perioada de mijloc a lactației 1,2—1,4 μg/ml (322). Colostru conține de 3,5 ori mai mult fier (328, 322).

În lapte fierul se găsește asociat cu o proteină lactoferină, colorată în roșu-salmon, cu o masă moleculară de 86 000, care se deose-

beşte chimic şi imunologic de transferină (322, 328), exceptînd lactoferina iepurelui, aproape identică cu cea a serului (260, 328).

3.4.4. Hemoglobina

Cromoproteida care realizează fixarea reversibilă şi transportul oxigenului şi participă la transportul CO_2, hemoglobina, este compusă dintr-o proteină, g l o b i n a şi h e m u l, combinaţie complexă a Fe(II) cu un colorant, protoporfirina. Se cunosc mai multe varietăţi de hemoglobină, de ex. *hemoglobina A* (Hb-A) a omului normal, *hemoglobina F* (Hb-F) a fetusului şi o serie de hemoglobine patologice.

Hemoglobina A, cu masă moleculară 64 458 şi un conţinut de 0,347g% fier în moleculă, este formată din 4 catene polipeptidice, identice două cîte două, numite catene (α, β); Hb-A are deci formula $\alpha_2^A\beta_2^A$ şi poate fi reprezentată ca în modelul (3.XXI). În formele de hemoglobină normală pot fi întîlnite 6 tipuri de catene polipeptidice: α, β, γ, δ, ε, ξ.

Protoporfirină α — fier; Protoporfirină α — fier; Protoporfirină β — fier; Protoporfirină β — fier

Lanţuri polipeptidice formînd globina

(3.XXI)

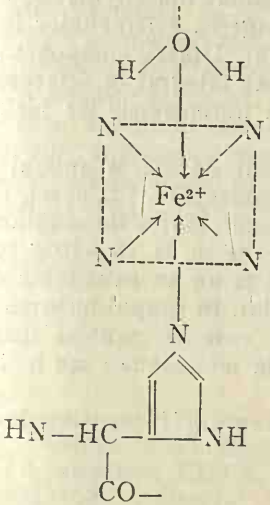
Fiecare catenă polipeptidică α este formată din 141 aminoacizi, iar cele β, γ, δ, şi ε din cîte 146 aminoacizi, a căror succesiune este cunoscută şi sînt legaţi de o moleculă de hem. Practic toate hemoglobinele au cîte două catene α şi o pereche din catenele β, γ, δ, ε. Prin indicarea simbolului catenelor polipeptidice, numărul şi tipul hemoglobinei, se poate descrie „formulele" lor.

Hemoglobinele umane normale sînt: embrionare: Gower 1 ($\xi_2\zeta_2$), Gower 2 ($\alpha_2^A\varepsilon_2$) şi Portland 1($\xi_2\gamma_2^F$); fetală ($\alpha_2^A\gamma_2^F$) şi adultă majoră $A(\alpha_2^A\gamma_2^A)$ şi minoră, $A_2(\alpha_2^A\delta_2^A)$.

Se cunosc două variante de catene γ: $G\gamma$ şi $A\gamma$, care determină două variante de hemoglobină F: $\alpha_2^A\,G\gamma_2^F$ şi $\alpha_2^A\,A\gamma_2^F$.

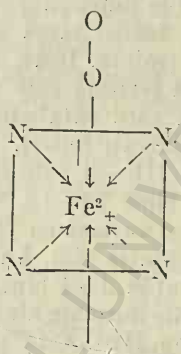
Structura catenelor polipeptidice este determinată genetic.

În hemoglobină, Fe(II) este legat de 4 atomi de azot ai porfirinei, aparținînd resturilor histidil. Una din legăturile Fe(II)—N cu restul histidil se face direct (histidil proximal), iar cealaltă, prin intermediul unei molecule de apă (histidil distal). Molecula de porfirină este plană, Fe(II) situat în mijlocul ei, este legat de 4 atomi de azot. De o parte a planului moleculei se află globina, legată de fier printr-un rest de histidină, cealaltă o moleculă de apă, în hemoglobină sau de oxigen în oxi-hemoglobină sau —OH în methemoglobină, așa încît Fe(II) este hexacoordinat și are o configurație octaedrică (3-XXII—XXIV)



Hemoglobină

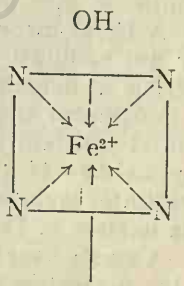
(3.XXII)



globină

Oxi-hemoglobină

(3.XXIII)



globină

Methemoglobină

(3.XXIV)

Din hemoglobină *A* s-au separat electroforetic fracțiunile :

A_1 predominantă în proporție de 96—98%, fracțiunea A_2 în proporție de 1—3,3 %, A_3 și A_4 (332).

Hemoglobina formează cu oxigenul molecular, oxihemoglobina, puțin stabilă, care la presiune parțială mică, în capilarele sanguine disociază, punînd O_2 în libertate, care difuzează în țesuturi :

$$\text{Hemoglobină} + O_2 \rightleftarrows \text{Hemoglobină} - O_2 \rightleftarrows$$

și servește în reacțiile de oxidare.

Molecula de Hb poate fixa o moleculă O_2 pentru un atom de Fe ; 1 g Hb fixează maximum 1,34 ml O_2, ceea ce corespunde la 400 ml O_2 pentru 1 g Fe.

Modul de legare a oxigenului poate fi urmărit în 6—XVI—6—XVIII (p. 219).

Hemoglobina poate fixa CO la grupele aminice ale proteinelor, iar Fe(II) molecula de oxid de carbon, formînd carboxihemoglobina Hb—CO, care avînd o stabilitate superioară (de 200 ori) oxihemoglobinei, se descompune lent (1 atom d fier fixează 1 mol CO).

Eritrocitul uman, conține 200—300 milioane de molecule Hb—A și are o viață de aprox. 120 zile după care este eliminat din circulație, iar hemoglobina catabolizată. Sechestrarea și distrugerea eritrocitelor îmbătrînite se face în SRE (splină. ficat, măduvă). Dintre componenții Hb—A fierul încorporat în feritină este reutilizat integral în refacerea unor noi compuși, globina este catabolizată în aminoacizi, iar inelul porfirinic al hemului în pigmenți biliari.

Conținutul sîngelui în Hb—A este dependent de specia animală : la om și șobolani 13—15, cîine 14—15, vacă, iepure 11—12, porci, oi, capre, cai 10—11 g/100 ml și variază cu vîrsta, sexul, starea de sănătate, graviditate, lactație, alimentație (42). La om scade de la 18—19 g/100 ml la naștere la 12 g/100 ml la 3—4 luni, iar de la un an cantitatea de Hb—A crește ușor la valorile normale ale adultului. În timpul pubertății are loc o creștere vizibilă a Hb—A la bărbați, care se menține toată viața, fenomen neobservat la femei, nici chiar la menopauză sau histerectomie.

Fierul (II) din hemoglobină poate fi înlocuit cu Co(II) menținîndu-și proprietatea de a fixa oxigenul molecular.

3.4.5. Transferina

Transportul fierului în plasmă are loc prin intermediul transferinei (siderofilinei), o glicoproteină de proveniență hepatică, cu masă moleculară 68 000—93 000 (75 000—80 000 daltoni) care migrează electroforetic împreună cu fracțiunea β_1-Fe^{3+} — transferina din serul uman prezintă o absorbție maximă la $\simeq$ 280 nm, cu E(1%, 1 cm), 14,3 și la 470 nm, cu E (1%, 1 cm) 0,57.

Se cunosc 19 variante genetice ale transferinei, cu proprietăți funcționale similare, care se deosebesc prin migrarea lor electroforetică.

Fiecare moleculă de transferină fixează doi ioni Fe^{3+} și doi anioni carbonat :

$$Fe^{3+} + H_6Tf_n + HCO_3^- \rightleftarrows [FeH_3Tf_n \cdot HCO_3] + 3H^+$$

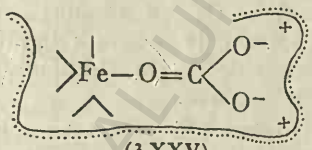
$$Fe^{3+} + [Fe^{3+}H_3Tf_n \cdot HCO_3] + HCO_3 \rightleftarrows [(Fe^{3+})_2Tf_L \cdot (HCO_3)_2] + 3H^+$$

Conținutul în fier al transferinei este de 0,13%, iar concentrația ei plasmatică de 215—350 mg/100 ml, cu $T^1/_2$ de 6—12 zile : fixarea Fe^{3+} este maximă la pH $\simeq$ 7,0.

Fiecare moleculă de transferină dispune de două locuri de fixare, care sînt ocupate 20—50%. Capacitatea totală de fixare a Fe^{3+} pe transferină (CTFF) este de 300—360 μgFe/ml care poate fi îndepărtat numai de agenți de chelatare cu selectivitate însemnată față de fier, ca de ex. desferioxamina.

Cele două locuri distincte de fixare ale Fe^{3+} sînt echivalente, dispuse în lanțurile laterale ale aminoacizilor, conținînd resturi de histidil, tirosil și probabil triptofanil ; legarea fierului afectează conformația și stabilitatea proteinei. În o v o-t r a n s f e r i n ă cele două locuri de legare ale Fe^{3+} pe aceeași moleculă sînt diferite.

Fixarea Fe^{3+} de proteină în transferină este favorizată de prezența unor anioni : carbonat, oxalat, glioxalat, glicolat, tioglicolat și glicinat. În cazul anionului carbonat, afinitatea proteinei față de Fe^{3+} este de ordinul 10^{31}, formarea complexului neavînd loc în absența lui. Anionul carbonat este legat atît de proteină cît și de ionul Fe^{3+} așa cum se poate urmări în (3—XXV)



(3.XXV)

Reacții de schimb ale Fe^{3+} din transferină cu agenți de chelatare ca NTA, ac-citric, EDTA, au arătat că reacția Fe^{3+}—NTA are loc foarte rapid, Fe^{3+} — citratul, în 20 ore, iar Fe^{3+} — EDTA după o săptămînă. Date spectrofotometrice indică că reacția Fe^{3+} — NTA are loc în două faze : în prima fază are loc un atac prin intermediul apotransferin carbonatului asupra Fe^{3+} din Fe^{3+}—NTA cu formarea unui complex NTA—Fe^{3+}—transferină—CO_3, care necesită 0,2 sec. ; faza a doua, care necesită 10 sec., reprezintă descompunerea complexului și formarea compusului fiziologic Fe^{3+} — transferină—CO_3.

Reacția de îndepărtare a Fe^{3+} din transferină cu ajutorul agenților de chelatare este o reacție lentă, ceea ce indică accesibilitatea redusă a acestora la Fe^{3+}. Substituirea anionului CO_3^{2-} cu glicină, mărește mult viteza de eliberare a Fe^{3+}, locul de legare al anionului afectează sensibil reactivitatea ionului metalic.

Ținînd seama de ușoara oxidare, în condiții fiziologice a Fe^{2+} la Fe^{3+}, care în formă nelegată este foarte toxic, datorită atît tendinței sale mari de a se polimeriza și precipita cît și de a forma complecși ne-

specifici cu multe biomolecule, în organism este nevoie de un agent de transport, cu specificitate ridicată față de fier, așa cum este transferina.

Mecanismul prin care fierul alimentar este fixat și trecut prin mucoasa peretelui intestinal de către transferină nu este cunoscut. Se presupune că transportul fierului în celulele mucoasei este efectuat de către „cărăuși" specifici membranei și citoplasmei și este cedat transferinei la nivelul membranei seroase de către locurile donatoare.

Fierul ar fi transportat ca Fe^{2+}, formă sub care apare și în ser, unde este oxidat rapid de către ceruloplasmină și apoi fixat de transferină. Date chimice recente indică fixarea Fe^{2+} de către transferină și oxidarea lui rapidă de către oxigen sau alți agenți oxidanți la Fe^{3+} — transferină. Complecși Fe^{2+} Fe(III) cu masă moleculară mică prezintă viteze mari de transport, iar reactivitatea mare a transferinei față de compușii cu fier labil vor asigura transportul lui rapid la locurile specifice de utilizare.

În ceea ce privește modul de cedare al fierului din complexul Fe^{3+} — transferină celulelor, se presupune că Fe^{3+} — transferina este fixată de membrană sub forma unui complex proteină-fier-site (343). Fierul este cedat celulei, anionul CO_3^{2-} eliberat mediului și apotransferina devine liberă. Înlocuirea anionului CO_3^{2-} cu anionul oxalat este însoțită de o micșorare însemnată a vitezei de cedare a fierului, ceea ce indică rolul central pe care îl are locul de legare al anionului în eliberarea fierului la receptorul membranei celulare.

După Fletcher și Huehus (96 a) în vivo cele două locuri de legare ale fierului din molecula Fe^{3+} — transferinei se comportă diferit, unul ar ceda fierul pentru depozitare, iar celălalt pentru producerea eritrocitelor sau pentru nevoile altor celule.

3.4.6. Feritina

Feritina este o proteină de depozitare a fierului formată dintr-un înveliș de proteină ce înconjoară o sferă microcristalină de hidroxi-fosfat de fier (III), care prezintă o asemănare fizică și chimică cu polimerii oxiferici sintetici.

Fiecare subunitate a feritinei are o masă moleculară de 18 500, iar toată macromolecula are o masă moleculară de 448 000. Miezul de fier al feritinei are compoziția $(FeOOH)_8 \cdot (FeO : OPO_3H_2)$ și conține una sau mai multe cristalite micelare. Diametrul miezului de fier este de cca 70 Å și al întregii macromolecule de 120 Å (fig. 3.18). Feritina complet încărcată cu fier are 4 500 de atomi, care reprezintă pînă la 25% din greutatea sa.

Rolul feritinei este de a fixa Fe(III) într-o formă care este netoxică, solubilă și ușor disponibilă, ionul Fe(III) fiind toxic și cu o solubilitate mică la pH neutru.

Feritina, localizată în celulele măduvei osoase, mucoasa intestinală, tubii renali, vilozitățile placentei și în ficat, are rolul de a forma depozite de fier și de a-i limita transportul la nivelul unor bariere ale organismului ca cea intestinală și placentară (343). La aport crescut de fier la nivelul organelor de localizare ale feritinei, are loc sinteza apoferitinei printr-un mecanism indus de formarea ARN mesager.

BIBLIOGRAFIE

96 a, 110, 128, 130, 149 a, 156, 167, 260, 279, 300, 322, 328, 332, 343, 358.

3.5. Cuprul (Cu)

3.5.1. Generalități, distribuție

Metal tranzițional de tip *d*, cu configurația electronică exterioară $3d^{10}\ 4s^1$, cuprul, cunoscut și aplicat din cele mai vechi timpuri sub forma aliajului său cu staniul, *bronzul*, se găsește în natură sub formă de minereuri, greu solubile, oxizi, Cu_2O, sulfuri Cu_2S, $CuFeS_2$, carbonați bazici $CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$ sau $2CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$, silicați, etc.

Component a numeroase enzime (tirozinaza, acid ascorbic oxidaze vegetală, succinil dehidrogenază, uricaza, γ-glutamiltransferaza, γ-glutamiclactamaza, butiril-CoA-dehidrogenaza, citocromoxidaza, monoaminooxidaza, δ-aminolevulinic acid dehidraza, dopamin-β-hidroxilaza, superoxid-dismutaza (hepatocupreina) și al hemocianinei, pigmentul sanguin al nevertebratelor, cuprul este un element esențial plantelor și animalelor, cu rol important în hematopoeză, sinteza porfirinei și a numeroase procese metabolice.

Distribuție. Conținutul cuprului la adulți variază între 100—150 mg, distribuția sa în diferite organe componente ale organismului este însă foarte variabilă. Cel mai ridicat conținut 2,75—17 μg/g substanță uscată, se întîlnește, în ordinea descrescîndă în: ficat, creier, inimă și rinichi, iar cel mai scăzut în glandele endocrine, mușchi și oase (0,60 — —1,44 μg).

Ținînd seama de masa mare a țesutului muscular și osos în organism, ele înglobează aproximativ 50% din totalitatea cuprului existent în organism.

Concentrații intermediare 0,5—3 μg/g substanță uscată se găsesc în plămîni, intestin și splină.

Cuprul hepatic, depozitat preferințial în celulele parenchimatoase, se găsește mai ales sub formă de *hepatocupreină*, cupru-proteină cu un conținut de 0,34% cupru, masă moleculară 35.000 și *metalotioneină* (30), proteină care leagă Cu și Zn în ficat (31).

Concentrația hepatică a cuprului este dependentă de factori exogeni și endogeni ca : specia animală, vîrstă, aport alimentar, starea de gestație, determinism genetic, starea de sănătate sau de boală, prezența sau absența antogoniștilor cuprului.

Astfel la om concentrația hepatică a cuprului este scăzută, fiind cuprinsă între 10 și 25 ppm, în timp ce la rumegătoare este 100—400 ppm.

Concentrația cuprului în ficatul noilor născuți la toate speciile animale, inclusiv omul, este cu mult mai ridicată comparativ cu adultul, cu excepția bovinelor și ovinelor. Cuprul hepatic fetal la om este de circa 10 ori mai mare, iar la nou născuți de $1^1/_2$ ori mai mare decît la adult (347). Peste 80% din cuprul total se găsește la naștere în porțiunile mitocondriale și nucleare, mitocondrocupreina, proteină cu un conținut deosebit de ridicat (~3%) în cupru.

Aportul alimentar condiționează concentrația cuprului în ficat. În cazuri de carență, cuprul hepatic scade atît la adulți cît și la fetuși (328), în timp ce la aporturi suplimentare de cupru în alimentație, el crește mult, fără ca animalele mamifere și păsările să prezinte manifestări clinice evidente. Înmagazinarea cuprului în ficat la aporturi excesive este determinată genetic ; anumite rase de oi, prezintă o mare capacitate de depozitare a cuprului în ficat (99).

Antagoniștii cuprului (Mo, sulfații, Fe, Zn, Ca, Cd, Ag, Hg, Mn etc.) pot influența nu numai absorbția dar și retenția sa hepatică.

Starea de gestație este însoțită la unele animale, de exemplu vacile, la o scădere cu circa 30% a cuprului hepatic în ultimele 3 luni de gestație (99).

Cuprul în sînge se află în cea mai mare parte, circa 90—93%, puternic legat sub formă de ceruloplasmina (Cp) și cca 7% slab legat de albumine și aminoacizi.

Cerulplasmina nu cedează cuprul hematiilor, care la rîndul lor, nu-l eliberează serului. Injectat i.v., Cu produce numai o creștere a fracțiunii neceruloplasmatice, care poate trece în spații celulare sub formă de combinații cu aminoacizi.

Ceruloplasmina este o α_2 — globulină cu masă moleculară 160 000, sintetizată exclusiv în ficat, cu o viață medie de 4—7 zile ; are absorbția maximă la 610 nm (la pH $\simeq$ 5,5—8,0), susceptibilitate magnetică 0,40 ; conține 0,30% Cu și 7% glucide formate din hexoze, hexozamine și acid neuraminic.

Fiecare moleculă de ceruloplasmină conține 8 atomi de cupru dintre care 4 sub formă de Cu(II) și 4 sub formă de Cu(I), legați într-un mod

încă neelucidat prin resturi de tirozină, histidină și leucină. Patru din cei 8 atomi de cupru sînt schimbabili cu Cu ionic, la incubare cu acid ascorbic la pH scăzut ; digestia ceruloplasminei cu chimotripsină eliberează 4 atomi de cupru. Îndepărtarea parțială a atomilor de cupru din moleculă este însoțită de dispariția culorii, datorită Cu(II) și a activității sale enzimatice. Acționează la pH 5,4—5,9 ca o oxidază de polifenoli, amine aromatice, Fe(II). Plasma conține cca 32 mg/100 ml ceruloplasmină.

Sinteza ceruloplasminei este inhibată, în ordine de : Ag, Cd, Mo, Zn și SO_4^{2-}, antagoniști ai cuprului (99). Fără a i se putea atribui o funcție fiziologică definitivă, se pare că, ceruloplasmina ar interveni în transferul secundar al cuprului de la țesuturile extrahepatice către ficat și ar asigura excreția lui prin bilă. În hematii 60% din cupru se găsește sub formă de eritrocupreină, provenită din măduva osoasă în timpul formării normoblastelor precursoare ale hematiilor, iar 40% ca fracțiune labilă neeritrocupreinică.

Eritrocupreina (hemocupreina) este o α_2 — globulină, cu masă moleculară de cca 31 000' stabilă, cu un conținut de 0,30% Cu ; conține 2 atomi Cu/mol și are o acțiune superoxid dismutazică.

Sîngele integral, la adulți, conține 80—130 μg/100 ml, iar plasma în medie, 91 μg/200 ml la bărbați și 85 μg/100 ml la femei (117), La nou născuți valorile cuprului seric sînt mai scăzute (~ 65 μg/100 ml) și cresc progresiv pînă la cca 164 μg/100 ml la copii și adolescenți (347).

La mamifere cupremia variază normal între 50—150 μg/100 ml, cu valori medii cuprinse între 80 și 120 μg/100 ml (40) ; valori maxime se întîlnesc la porcine $\simeq$ 222 μg/100 ml și minime la păsări.

Cupremia este influențată de factori genetici (320), vîrstă, sex, (mai mare la femei cu 10% decît la bărbați)(117), alimentație și prezența antagoniștilor (Mo, sulfați, Cd, Pb, Fe, Ca, Ag) și de starea de sănătate sau de boală a animalelor.

Administrarea de oestradiol la om și de preparate anticoncepționale la femei, stilboestrol la porci și șobolani și de tiroxină la oi, este însoțită de o creștere a conținutului cuprului.

La femei și unele specii animale, conținutul cuprului în plasmă este dependent de sarcină. Astfel cuprul seric crește în timpul sarcinii pînă la naștere ; o creștere bruscă are loc pînă în săptămîna 22-a, după care ea are loc lent. La 5 săptămîni de la naștere valorile revin la normal. Între conținutul cuprului din cordonul ombilical și vîrsta fetală ar exista o dependență, el ar crește de la 31,5 μg/100 ml în luna a patra a sarcinii la 54,61 μg/100 ml) în luna a noua. Cuprul seric prezintă valori crescute (157,6—196 μg/100 ml) la femeile gravide suferinde de hepatită (74). La femei, cuprul seric suferă variații ciclice cu valori maxime spre finele fazei de secreție și minimul la sfîrșitul fazei de proliferare, în timpul ovulației (74, 121); în afecțiuni ginecologice: cuprul seric crește în micro-

carcinoame uterine, în displazii grave (312), anexite și alte boli inflamatorii (74, 124). Cuprul micșorează mobilitatea spermatozoizilor (47).

Creșteri patologice ale cuprului seric și ale ceruloplasminei se întîlnesc în infecții acute și cronice, leucemii acute și procese neoplazice, boala lui Hodgkin, anemie pernicioasă, hemocromatoze, infarct miocardic ateroscleroză, eczeme generalizate, psoriazis, exanteme medicamentoase, (186, 347).

Scăderi patologice ale cupremiei și ale ceruloplasmeinei apar în sindromul nefrotic datorită pierderilor urinare, în ciroze decompensate la tineri, în enteropatii cu pierderi de proteine și în perturbări grave a sintezelor proteice, precum și în carențe alimentare de cupru.

În creier concentrația cuprului este relativ scăzută, cu o medie de 18 ppm la om (8) ; substanța cenușie este mult mai bogată în cupru comparativ cu cea albă. Conținutul cuprului în creier scade în stări de carență și crește mult în intoxicații (99).

Cea mai mare parte a cuprului din creier se găsește sub formă de cerebrocupreină, complex cuproproteic, cu un conținut de cca 0,3% cupru, masă moleculară 30 000, conținînd 2 atomi de cupru/mol.

În lapte concentrația cuprului este redusă la toate speciile și este asociat în proporție de 35% cu grăsimea ; la femeie este de 0,15—0,17 μg ; la oi 0,04—0,16 μg/ml, și scade în timpul lactației ; colostrul este mai bogat în cupru.

În ouă, cuprul se găsește în proporție de cca 1/3 din cel total, în albuș.

În ceea ce privește repartiția cuprului din organe între diferitele fracțiuni celulare, peste 50% se găsește în fracțiunea solubilă, 10% în mitocondrii și 5% în microsomi.

În organismul viu, cuprul ionic nu poate exista decît în stomac, unde valoarea ridicată a pH-ului o permite. În organism, cuprul se găsește în totalitatea lui, legat sub formă de combinații complexe, asociat, cu proteine, peptide, aminoacizi și probabil și cu alte substanțe organice. Cea mai mare parte a proteinelor leagă cuprul prin legături slabe și disociabile și numai o parte din ele sub formă de cupru-proteine, în care cuprul nu mai este disociabil, dar joacă un rol important în procesele vitale. Multe cupru-proteine ca : citocrom-C-oxidaza, tirozinaza, uricaza, MAO, sînt enzime cu rol biocatalitic deosebit de importante la vertebrate ; ele nu funcționează ca transportor respirator, ca hemocianina la moluște.

Alte cupru-proteine ca, eritrocupreina și hepatocupreina din eritrocitele și ficatul uman, hemocupreina din eritrocitele de bou și cerebrocupreinele din creier, nu au caracter catalitic.

3.5.2. Metabolism

Metabolismul cuprului a fost studiat cu ajutorul ^{64}Cu și este influențat de o serie de antagoniști, din care cauză o alimentație bogată în cupru nu dă siguranța unui coeficient normal al acestuia în organism.

3.5.2.1. Absorbția

Cuprul este absorbit în stomac și mai ales în părțile proximale ale intestinului subțire. În vitro, acest proces are loc în condiții aerobe și este dependent de energie. Gradul de absorbție: 10% la animale, 32% la om depinde de forma chimică sub care el se găsește în alimente, natura altor minerale sau compuși organici și pH-ul conținutului intestinal în zona de absorbție.

Viteza de absorbție a ^{64}Cu, administrat oral, atinge un prag maxim după 0,5 ore și este facilitată de l-aminoacizi , cu care formează complecși chelați. Viteza de absorbție poate fi influențată de afinitatea Cu^{2+} față de compușii organici sau anorganici prezenți în hrană, care-l pot chelata. Fitații, acidul ascorbic în cantități ridicate micșorează absorbția cuprului; absorbția, retenția și distribuția cuprului în organism este influențată de prezența și conținutul unor antagoniști sulfuri endo și exogene, cianuri, tiocianați și unele microorganisme.

În mucoasa intestinală, cuprul este legat de două proteine, una cu proprietăți fizice analoage superoxid dismutazei, iar cealaltă bogată în grupări sulfhidrilice și masă moleculară de 10 000.

După ingerarea unei doze de ordinul mg, ficatul fixează după 4—5 ore, 80% din cuprul administrat, 20% trece în țesuturile extrahepatice, iar rinichii nu rețin decît cantități foarte mici. În timp, radioactivitatea ficatului scade lent, atît datorită excreției cuprului prin bilă, cît și trecerii lui în sînge. Cuprul seric este puternic legat și nedisociat (p. 103), în proporție de 90—95%, sub formă de ceruloplasmină și aproximativ 5—10μg% slab legat, disociabil, de albuminele serice.

Ceruloplasmina nu cedează cuprul hemotiilor, care la rîndul lor nu-l eliberează serului. Injectat i.v. produce numai o creștere în cupru a fracțiunei neceruloplasmatice, care poate trece în spații celulare sub formă de combinații cu aminoacizi.

Locul de legare al cuprului de albumine implică, după Peters și Blumenstok (257), atomul de azot aminic din poziția α, atomul de azotmadazol din poziția 3 a histidinei, precum și cei doi atomi de azot ai legăturilor peptidice, așa cum se p ate observa din structura 3.XXVI.

Între cuprul seric, legat de albumină și cuprul din țesuturi, există un echilibru care se stabilește extrem de rapid. Dintre aminoacizii care funcționează ca liganzi ai cuprului în ser, l-histidină ocupă primul loc, urmată de treonină și glutamină. În ultrafiltratele serului uman

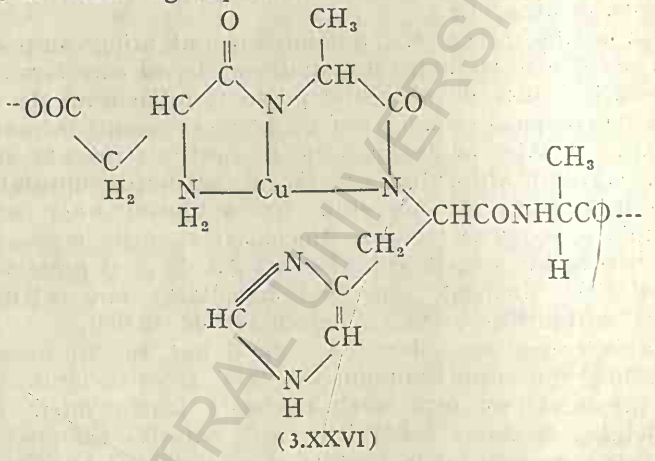
au fost puși în evidență și separați, complecși micști ai cuprului cu doi aminoacizi (l-histidină și l-treonină), sau chiar cu trei aminoacizi, dintre care unul este l-histidină.

După Sarker și col. (276) ar exista următoarele echilibre între complexul cupru-albumină și complexul cupru-aminoacid, complexul ternar fiind cel care limitează viteza reacției de schimb a liganzilor.

$$\text{Cupru} + \text{aminoacid} \rightleftarrows \text{cupru} - \text{aminoacid} \xrightarrow{+\ \text{Albumină}} \xleftarrow{}$$

$$\text{Albumină-cupru-aminoacid} \rightleftarrows \text{Albumină-cupru} + \text{Aminoacid}$$

Schema metabolismului cuprului la om poate fi urmărit în fig. 3.19 ; cifrele indică mg cupru.



(3.XXVI)

3.5.2.2. Excreția

Excreția cuprului are loc, mai ales, prin bilă 80% și materii fecale. Prin administrare i.v. a ^{64}Cu, radioactivitatea se concentrează la nivelul ficatului și duodenului. În zilele următoare ^{64}Cu apare în materiile fecale, în timp ce în urină se găsesc cantități foarte mici (4—5 μg/zi). Excreția cuprului prin rinichi și peretele intestinal crește la obstrucția căilor biliare ; în boala lui Wilson cuprul eliminat zilnic poate atinge 1 500 μg. Saliva conține urme de cupru care poate fi reabsorbit în intestin sau eliminat, iar cantitățile eliminate prin transpirație sau menstruație sînt neglijabile.

3.5.3. Carență și acțiune farmacologică

La omul adult nu a fost semnalată nici o carență în cupru chiar în regiunile unde ea era gravă la animalele erbivore. Necesitățile zilnice 1—1,6 mg la copii de 3—6 ani, 1, 3 mg la copii de 6—10 ani și aproximativ 2 mg la adulți, sînt acoperite de sursele obișnuite de hrană (328)

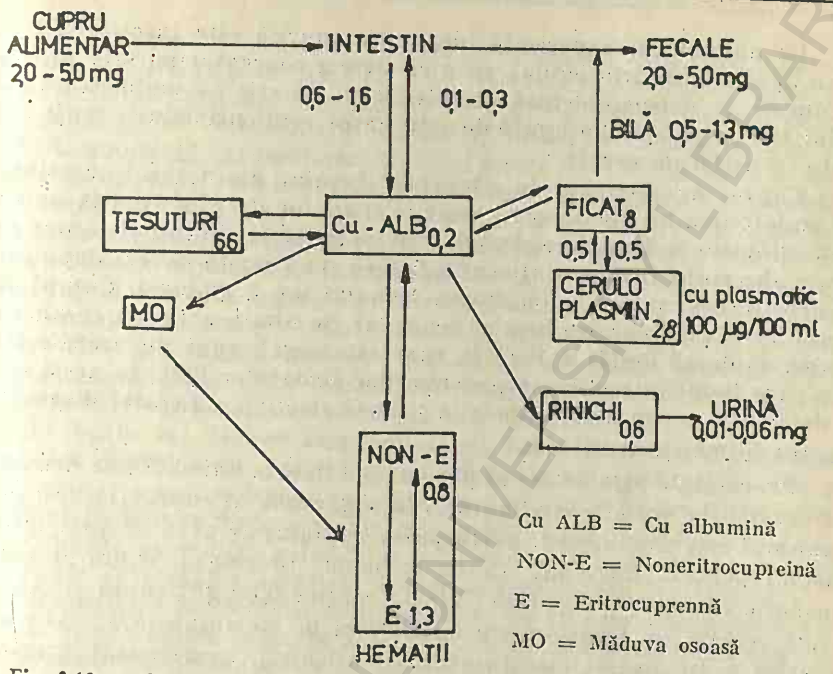


Fig. 3.19. — Reprezentarea schematică a metabolismului cuprului, la om, [42 a]

La sugari, deficitul în cupru apare în anemii, în regiunile sărace în care alimentația constă mai ales în lapte de vacă și derivate, în sindromul Menkes, legat de o anomalie genetică a absorbției cuprului și manifestat printr-o deteriorare mintală progresivă, cheratinizarea anormală a părului, hipotermie, conținutul sărac în cupru al serului și plasmei, leziuni metafizare și alterări degenerative ale elastinei aortice (60), cît și în cazuri de kwashiorkor sau în marasmul (caşexie) netratat.

Un număr însemnat de tulburări funcționale ca : anemia, creșterea întîrziată, tulburări osoase, depigmentarea părului și a lînei, ataxia neonatală la miei, tulburări de reproducere, gastrointestinale și cardiovasculare la animale, au fost asociate cu lipsa cuprului alimentar. Ele sînt dependente de : specia animală, vîrstă, sex, mediu înconjurător, durata și conținutul deficitar al cuprului în alimentație.

În stări avansate de depletiție cuprică, micșorarea ridicată a activității citocrom-oxidazei din ficat, mușchi și țesutul nervos joacă un rol important în tulburări de mielinogeneză, cu repercursiuni într-o gamă largă de alte activități de sinteză, dependente de formarea trifosfo-nucleotidelor prin fosforilare oxidativă.

La animale de experiență, depletiția cuprică este însoțită adesea de o lipsă a utilizării fierului, cu o creștere a concentrației sale în ficat și uneori de o hemosideroză caracteristică. Se știe că mobilizarea fierului tisular este intim legată de activitatea ceruloplasminei, mult scăzută în astfel de cazuri.

Cuprul ar interveni în absorbția fierului din tractul intestinal, în mobilizarea lui din depozite tisulare și are un efect esențial în sinteza hemoglobinei la mamifere. Datele privitoare la facilitarea de către cupru a absorbției fierului sînt contradictorii și nu există dovezi după care el ar interveni direct în biosinteza hemului sau a globinei. Cuprul are însă un rol în mobilizarea fierului depozitat. Se admite astfel că, ceruloplasmina oxidează Fe(II) la Fe(III), care este legat apoi de transferină, din care fierul este eliberat precursorilor hematiilor (22). În acest caz, o deficiență a cuprului ar duce la o lipsă efectivă a fierului disponibil pentru formarea hematiilor.

Procesul de pigmentare al părului și a lînei la animale este deosebit de sensibil la variația conținutului în organisme al cuprului; deși mecanismul este necunoscut, participarea cuprului ar avea loc prin intermediul polifenloxidazelor, ca de exemplu, tirozinaza, cupru-proteină incoloră, cu masă moleculară 33 000; conține 0,02 g% cupru și catalizează reacția de transformare a tirozinei în melanină (87). Absența genetică a tirozinazei este însoțită de albinism, caracterizat printr-o sensibilitate deosebită la lumină.

Procesul de cheratinizare, forma și aspectul fizic al părului și al lînei este dependent de prezența și numărul legăturilor S—S care participă la formarea unor legături încrucișate (cross-linkage) în cadrul sintezei și succesiunea catenelor polipeptidice ale cheratinei, ambele afectate de deficiența cuprului.

De altfel, cuprul este implicat în biosinteza elastinei aortice, cu un conținut însemnat de legături încrucișate (cross-linkage) dependente de formarea desmozinei, acid tetraaminotetracarboxilic și a izomerului său izodesmozina. Reducerea activității amino-oxidazei din aortă este însoțită de o micșorare a dezaminării oxidative a grupării ε-amino din lisină, care face ca mai puțină lisină să fie transformată în desmozină, de unde, elasticitatea mai redusă a aortei și friabilitatea miocardului.

Fertilitatea scăzută la animale, strîns legată de o scădere sau întîrziere a oestrului a fost asociată de unii autori (328) cu o deficiență în cupru.

Constituent al citocromoxidazei, cuprul are un rol important în reacțiile de fosforilare oxidativă.

Acumularea anormală a cuprului în organism este caracteristică așa cum am arătat și în boala lui Wilson. Se manifestă prin : ciroză hepatică, alterări degenerative ale regiunii lenticulare ale creierului, anomalii în metabolismul cuprului, tulburări renale și aminoacidurie anormală. Acumularea cuprului crește cu evoluția bolii, în special în ficat, creier, rinichi și cornee, fiind însoțită de apariția așa-ziselor inele Kayser-Fleischer, cu o culoare galben-verzuie în partea externă a corneei ; conținutul cuprului în ficat crește de la 4 la 40 ori valoarea medie normală, iar în creier de la 7 la 17 ori ; creșterea cuprului se întîlnește și în alte organe, dar într-o măsură mult mai redusă (328).

Ceruloplasmina serică are o valoare scăzută în general, de la zero la 25—75% din valorile normale, deși sînt citate cazuri, cînd valoarea sa este normală sau chiar crescută. Valoarea cuprului seric total este scăzută, în timp ce cupreina directă este crescută.

În boala lui Wilson (degenerescență hepatolenticulară), excreția urinară a cuprului este mărită avînd valori de peste 100 μg/24 ore, și poate atinge valori de 500 μg sau chiar de 1 500 μg în 24 ore. Conținutul cuprului în bilă și materii fecale este sub valorile normale.

Capacitatea redusă a ficatului de a capta ^{64}Cu sau ^{67}Cu, pare să constituie o trăsătură esențială a mecanismului bolii lui Wilson.

Combaterea acumulării cuprului este însoțită de ameliorarea clinică și de prevenirea bolii. În acest sens, se utilizează mai ales D-penicilamina, administrată, per os, în capsule, în doze de 1—2 g/zi, care produce o creștere marcantă a excreției urinare a cuprului, de la 1 000 μg/24 ore inițial, la 4 000—5 000 μg/24 ore.

3.5.4. Surse de cupru

Necesarul alimentar zilnic în cupru, pentru un adult, este de 2—4 mg furnizate de un regim alimentar normal și 0,05 mg/kg pentru un copil. Cele mai mari cantități de cupru se găsesc în : crustacee, moluște, unele specii de pești, în ficat, rinichi, creier, nuci, legume uscate, fructe, cacao, toate conținînd între 20—30 și 300—400 ppm, iar cele mai scăzute, sub 0,5 ppm, în lapte și derivate, zahăr alb, cereale, pîine, miere (328). Conținutul cuprului în apa potabilă moale este superior apei dure.

Rafinarea cerealelor este însoțită de micșorarea conținutului în cupru.

Un bilanț pozitiv al cuprului este întîlnit la copiii normali noinăscuți, de 7—14 zile al căror regim alimentar le furnizează zilnic între 58—100 μg cupru/kg greutate corporală. După Engel (83) echilibrul cupric la copii de 6—10 ani este atins printr-un aport alimentar zilnic de 40 μg/kg și de 30 μg/kg pentru un adult de sex masculin (8).

3.5.5. Toxicitate

Toleranța pentru cupru, la cele mai multe specii animale cu stomac analog omului, este ridicată. Conform indicațiilor comitetului mixt FAO/OMS a experților în aditive alimentare (355) un aport zilnic de cupru care nu depășește 0,5 mg/kg corp nu are nici un efect vătămător pentru om. După Salmon și col. (328) un aport de 80 μg Cu/100 ml apă, poate constitui un pericol pentru sănătate la o expunere îndelungată.

BIBLIOGRAFIE

8, 30, 31, 45a, 47, 59, 60, 74, 82, 83, 99, 117, 121, 124, 186, 257, 276, 312, 320, 328, 347, 355

3.6. Cobaltul (Co)

3.6.1. Generalități, distribuție

Element tranzițional din subgrupa VIII-a, triada I, cu configurație electronică, $3d^74s^2$, cobaltul este răspîndit în natură sub formă de compuși cu arsenul și cu sulful, $CoAs_2$, CoAsS, Co_3S_4; oligoelement cu o acțiune apreciabilă asupra hematopoezei, Co, este indispensabil creșterii și nutriției rumegătoarelor pentru sinteza intestinală a vitaminei B_{12}, cu ajutorul microflorei tractului digestiv. Astfel formată, vitamina B_{12} este absorbită din rumen în țesuturi, fiind necesară metabolismului acidului propionic, sursă de energie la animale. Cobaltul are un rol esențial și în fixarea azotului de către nodulii din rădăcina leguminoaselor (p. 228).

Distribuție. Cobaltul este larg răspîndit în organism, fără a prezenta acumulării particulare în organe sau țesuturi. Concentrații ceva mai ridicate se întîlnesc în ficat, pancreas, rinichi și oase.

Conținutul mediu total al unui adult (70 kg) este de 1,1 mg Co cu concentrații, în ppm substanță uscată de 0,18 în ficat, 0,09 splină, 0,23 rinichi, 0,10 inimă și 0,06 pancreas (328). Aceste concentrații sînt inferioare în deficiență sau crescute în aporturi suplimentare de cobalt.

Ficatul oilor și al vitelor sănătoase conțin 0,08—0,12 ppm Co și numai 0,04—0,06 ppm, în cazul dietelor deficiente în cobalt. Spre deosebire de cupru și fier, cobaltul nu se acumulează în mod normal în ficatul foetusului. Concentrația cobaltului în ficat poate fi crescută de peste zece ori față de cea normală, prin administrare suplimentară de cobalt, dar excesul de cobalt nu poate fi utilizat de animale la sinteza vitaminei B_{12} (328).

Proporția cobaltului în ficat, prezent sub formă de vitamină B_{12}, variază cu conținutul total al cobaltului în organismul animal. La o concentrație normală, virtual întreaga cantitate de cobalt din ficat se găsește sub formă de vitamina B_{12}; în cazuri de deficit în cobalt, numai 1/5 din cobaltul hepatic se află sub această formă (7).

Valorile cobaltului în sîngele normal uman, dependente de metodele de determinare utilizate, sînt controversate: 0,007—0,036 (în medie 0,018); 0,17—1,5; 0,35—6,3 în medie 4,3 μg Co/100 ml (166). Hematiile conțin mai mult cobalt decît plasma (166).

Laptele de vacă conține 0,4—1,1 μg/l cu o medie de aproximativ 0,5 μg/l în timp ce colostrul de 4—10 ori mai mult. Aceste cantități cresc la administrare suplimentară de săruri de cobalt; animalele tinere, în perioada lor de alăptare, nu pot utiliza cobaltul suplimentar primit prin administrare pînă ce rumenul lor nu dispune de flora necesară încorporării lui sub formă de vitamină B_{12}. Suplimentarea Co în alimentația lipsită de cobalt duce la o creștere semnificativă al conținutului vitaminei B_{12} în lapte și mai ales în colostru.

3.6.2. Metabolism

Cobaltul alimentar sau cel administrat pe cale orală, sub formă de săruri solubile, este greu absorbit și excretat mai ales prin fecale. Cu ajutorul ^{60}Co, administrat oral sau injectabil s-a arătat că la șobolani 80% din radioactivitate se regăsește în fecale, 10% în urină și numai puțină în țesuturi, exceptînd ficatul. La vite: 80% în fecale și numai 0,5% în urină, ceea ce denotă o retenție inițială mai mare și o pierdere mai lentă din țesuturi.

Absorbția cobaltului variază cu regimul alimentar, pH gastric și duodenal; ea este crescută în cazuri de carență în fier.

Sucul pancreatic nu constituie o cale semnificativă de eliminare a cobaltului.

Injectat, cobaltul, este eliminat, mai ales, prin urină. Astfel 65% din radiocobaltul injectat apare rapid în urină și 7—30% în fecale. La rumegătoare, absorbția orală a ^{60}Co este mai lentă și mai puțin completă, datorită legării lui sub formă de vitamină B_{12}. Administrat în doze mari, la rumegătoare, cobaltul se acumulează în ficat.

La om, cobaltul este ușor absorbit și eliminat mai ales prin urină. La femei adulte 73—97% din Co oral este absorbit, 67% eliminat pe cale urinară și 15% prin fecale; la fetițe impubere 90% din Co este eliminat prin fecale și 10% prin urină (328).

Absorbția intestinală a Co este analoagă cu cea a Fe; în carență de Fe absorbția Co este crescută, excesul de Co micșorînd absorbția Fe.

Se cunosc interacțiuni metabolice Co—Fe, datorită unei căi comune de absorbție, Co—Se (328), Co-Ti (162), Co-Cu (211) și Co-I.

3.6.3. Carență și necesarul în cobalt și vitamină B_{12}

Animalele rumegătoare hrănite cu plante de pe soluri sărace în cobalt, prezintă semne de carență în cobalt, caracterizate printr-o anemie gravă normocitară și hipocromă, pierdere a apetitului, emaciere, anorexie, avort spontan, diaree, piele solzoasă, hemosideroză splinei, ficatului și rinichiului. Hemosideroza este însoțită de blocarea hematopoezei și depozitarea exagerată a fierului.

Aceste manifestări clinice și patologice ale carenței în cobalt la rumegătoare sînt însoțite de scăderea cobaltului în țesuturi, în special în ficat și rinichi și în rumen. O scădere a cobaltului în lichidul din rumen sub 20 m μg/ml este însoțită de inhibarea sintezei vitaminei B_{12} de către microorganismele existente și ca urmare, concentrația ei din rumen, ficat, sînge și alte țesuturi, scade.

Carența de cobalt la rumegătoare este o carență de vitamină B_{12}, ea fiind tributară ingestiei de cobalt anorganic pentru sinteza bacteriană a vitaminei B_{12} în tubul digestiv. Cobaltul este necesar atît sintezei vitaminei B_{12} cît și menținerii unei microflore normale în tractul digestiv al rumegătoarelor. În carență de cobalt, ficatul, conținutul digestiv al animalelor și serul prezintă o cantitate foarte redusă de vitamină B_{12}; apare și o carență de acid ascorbic, o creștere a piruvatului plasmatic, a fosfatazemiei, o scădere a glicemiei și a rezistenței animalelor la infecții precum și slăbirea firului lor de lînă (211, 328).

Sensibilitatea cea mai ridicată la lipsa cobaltului din pășuni se întîlnește la miei, urmați de oi, viței și animale rumegătoare mari. Cantitatea minimă de cobalt necesară oilor și vitelor este de 0,07—0,08 ppm iar pentru miei în creștere de 0,11 ppm (substanță uscată) (7).

Necesarul în vitamina B_{12} al animalelor rumegătoare este superior omului și prezintă valorile minime : 11 ± 2 μg/zi la oi, 50 μg/cobalamină o dată la două săptămîni pentru miei, 20—40 μg/kg substanță uscată consumată pentru viței sugari.

Concentrația Co sau mai bine a vitaminei B_{12} în ficatul oilor sau vitelor poate constitui un parametru de diagnostic al debitului în cobalt, așa cum se poate vedea din tabelul 11.

O scădere a vitaminei B_{12} în ser la aproximativ 0,26 μg/ml la oi și 0,30 mμg/ml la miei poate constitui semne de carență a cobaltului (17); aceste cantități scad sub 0,20 mμg/ml la carențe apreciabile. Scăderea concentrației vitaminei B_{12} în sînge la aproximativ 0,2 mμg/ml poate constitui o deficiență în cobalt.

Tabelul 11

Concentrația vitaminei B_{12} în ficatul unor animale (7)

Carență în cobalt	Concentrația vitaminei B_{12} (μg/g ficat proaspăt)
Carență ridicată în cobalt	0,07
Carență moderată în cobalt	0,07—0,10
Carența ușoară în cobalt	0,11—0,19
Cobalt în cantitate suficientă	0,19

Tratarea pășunilor cu substanțe fertilizante, cărora li s-au adăugat săruri de cobalt, constituie cea mai utilizată și comodă metodă de prevenire și tratament a carenței cobaltului la animale. Astfel adăugarea a 100—150 g $CoSO_4$ pe acru* anual sau bianual sau o singură dată a 500—600 g $CoSO_4$/acru pășune, menține conținutul satisfăcător de cobalt timp de 3—6 ani. Gradul de carență în cobalt, tipul și compoziția solului determină cantitatea și frecvența tratării cu cobalt.

Administrarea orală a Co sub formă de oxid sau săruri este utilizată la animalele hrănite în grajduri.

3.6.4. Cobaltul în alimentația omului

Omul este incapabil să sintetizeze vitamina B_{12}, plecînd de la cobaltul alimentar; cobaltul este singurul oligoelement fiziologic activ pentru om, numai sub formă de cianocobalamină sau vitamina B_{12}. Omul utilizează vitamina B_{12} sintetizată de rumegătoare și bacterii.

După raportul experților FAO/OMS din 1970 (358) aportul zilnic de vitamina B_{12} se poate urmări în tabelul 12.

Tabelul 12

Cantități zilnice recomandate de vitamina B_{12} (358)

Etate	Aport zilnic recomandat în μg
0—12 luni	0,3
1— 3 ani	0,9
4— 9 ani	1,5
10 ani	2,0
Sarcină	3,0
Alăptare	2,5

* 1 hectar = 2,47 acri

Date privitoare la existența unei carențe alimentare în cobalt care să afecteze sănătatea omului nu se cunosc. S-a semnalat în unele regiuni ale URSS-ului, o incidență între gușa endemică la om, animale de fermă și concentrația Co în sol, alimente și apă. Sănătatea și alimentația umană par a fi limitate, în cazul cobaltului, la prezența vitaminei B_{12}.

Cel mai ridicat conținut în cobalt îl au produsele vegetale verzi, iar cel mai scăzut, cerealele și laptele, cel uman 0,5—27 μg/l (289). Spanacul conține 0,4—0,6 ppm, varza 0,2, semințele de grîu 0,01, făina albă 0,003 ppm (substanță uscată).

Efectele biologice ale cobaltului depind mult de dozele ingerate sau administrate și sînt afectate de prezența aminoacizilor și grupărilor sulfhidril cu care formează complecși chelați.

Exceptînd rolul în vitamina B_{12}, cobaltul este un stimulent nespecific eritropoetic; în doze mici o stimulează, iar în doze mari o inhibă. Se utilizează sub formă de clorură sau sulfat, în tratamentul anemiilor.

Utilizat în scopul măririi stabilității spumei la bere, în doze de 3 mg sulfat la 450 g bere, produce cardiopatii, la marii băutori de bere (141).

Administrat oral în doze mari sau parenteral în doze mult mai mici, cobaltul produce: policitemie, reticulocitoză, hiperplazia măduvei oaselor și activitate eritropoetică extramedulară, mai ales la nivelul ficatului și splinei. La o carență în Fe și Cu sau la îndepărtarea splinei, policitemia prin cobalt nu are loc. Manganul, cisteina, histidina, vitamina C, extractul de ficat reduc sau împiedică apariția policitemiei prin cobalt.

Inoculat în cantități mari la animale produce hipoxie histotoxică și o toxicitate miocardică caracteristică, cu edeme pericardice.

Cobaltul în exces produce fenomene toxice, prin inhibarea unor sisteme enzimatice (succindehidrogenaza, citocromoxidaza, catalaza), sau prin substituirea în unele sisteme enzimatice a magneziului cu cupru.

Limita de securitate dintre concentrațiile cobaltului conținut într-un regim alimentar curent și efectele toxice observate la om este foarte largă. După Tipton și col. (324a), Schroeder și col. (284) regimurile alimentare zilnice ale adulților din America de nord conțin 150—160 μg cobalt, ceea ce corespunde la 0,2—0,4 mg/kg hrana uscată. În condiții dietetice anormale, aporturi alimentare foarte crescute de 250—300 mg/kg pot deveni toxice pentru om, iar cele scăzute de cobalt, de 25—30 mg/zi pot determina maladii.

BIBLIOGRAFIE

7, 141, 162, 166, 211, 284, 289, 324a, 328, 358

3.7. Zincul (Zn)

3.7.1. Generalități, distribuție

Zincul, element din subgrupa a II-a, cu configurația electronică exterioară $3d^{10}4s^2$ și o concentrație de 0,02% în greutate în scoarța terestră, este un microelement esențial organismelor vii. Constituent al unor hormoni, insulina și metaloenzime: carboxipeptidaza, fosfataza alcalină, alcool-malic-lactic și glutamic dehidrogenazele, aminopeptidaze și triptofan desmolaza și cofactor într-o varietate de sisteme enzimatice ca arginaza, enolaza, decarboxilaza oxalacetică, carnosinaza, mai multe peptidaze, izomeraze, aldolaze; zincul influențează metabolismul hidraților de carbon, a lipidelor și proteinelor și intervine într-un domeniu larg de activități celulare, ca sinteza ADN și ARN, a proteinelor bogate în sulf, etc. (261, 328, 329, 343).

Conținutul Zn în organismul uman adult (70 kg) este de 1,4—3,0 g adică aproximativ 1/2 din acela al Fe, de 10—15 ori mai mare decît al Cu și de 100 ori mai ridicat decît acela al Mn. Concentrația Zn în perioada intrauterină a fătului variază puțin dar crește apreciabil în perioada de alăptare.

Valori standard ale concentrației tisulare ale zincului, dependente de: aportul alimentar, prezența antagoniștilor în exces (Ca, Cd, Cu, fitați, aminoacizi), de vîrstă, sex, de sezon, de stări de stress și alți factori, sînt greu de stabilit (10, 63, 328). Zincul este stocat cu predilecție în țesuturile cu calcifiere, și de sinteză de proteine active, în piele și fanere, pancreas, ochi. În celule predomină în nucleu (>30%), în mitocondrii și ribozomi (10%).

Distribuție. În organismul uman distribuția Zn în diferitele organe și țesuturi variază între 10,2 μg/g în prostată și 12—17 μg/g în glanda suprarenală, creier, plămîni și testicule (324a). Cantități de aproximativ 55 μg/g se găsesc în ficat, mușchi și rinichi (324a). Conținutul Zn în țesuturi, în oase 105 ppm la femei și 95 ppm la bărbați (8), pancreas, testicule, plasmă, păr, poate crește prin aport alimentar.

Deși Zn are un rol important în producerea în vivo a insulinei, conținutul său total în țesut pancreatic, lipsit de grăsimi, al diabeticilor și nediabeticilor nu prezintă diferențe semnificative. Zincul existent în pancreasul șobolanilor și al cobailor este concentrat în insulele lui Langerhans; concentrația lui depinde de starea funcțională a celulelor, el activează funcția celulelor care elaborează insulina.

Concentrația zincului în mușchi variază cu culoarea și activitatea lor funcțională. În celulele hepatice și mamare, zincul se găsește în fracțiunile nucleare, mitocondriale și supernatante și prezintă o concentrație maximă în supernatant și în microsomi. Cercetări efectuate

cu radiozinc, ^{65}Zn, au arătat că în aceste țesuturi 1/6 din zinc este strîns legat sub formă de mataloenzime și acizi nucleici și nu poate fi îndepărtat prin dializă îndelungată cu EDTA, spre deosebire de zincul legat de grupările imidazol și sulfhidril ale proteinelor din care poate fi îndepărtat.

Pielea, unghiile și părul au un conținut ridicat în Zn. Valoarea medie a zincului în unghii este de 151 ppm, iar în păr de 167 ± 5 ppm la bărbați și de 172 ± 9 ppm la femei și prezintă anumite variații individuale mai însemnate, cît și variații mai mici cu vîrsta, culoarea sau chiar cu clima.

Concentrația ridicată de zinc, dependentă de specia animală se găsește în țesutul ocular, în iris (436 ppm) și coroidă (277 ppm), ajungînd la 14 600 la cîine, 69 000 la vulpe și 91 000 ppm la jder, substanță uscată (328).

În organele sexuale masculine zincul se găsește în cantități mari în prostată — 859 ppm, în prima fracțiune de ejaculare — 2 900 ppm, în cea de a doua — 1 400, în cea de a treia —910 ppm, iar în spermatozoizi — 1 990 ppm.

Concentrația zincului este crescută în glandele prostatice hiperplastice nemaligne la aproximativ 972 ppm, față de 732 ppm ; în cancerul prostatic benign, concentrația sa scade între 30—884 ppm, cu o valoare medie de 486 ppm substanță uscată.

Conținutul normal în zinc al serului, dependent de aport alimentar și de stresuri, este de 114,5 la bărbați și 111,6 μg/100 ml la femei ; el scade în timpul sarcinii (122).

Hematiile conțin 75—85% din zincul total existent în sînge, plasma 12—22% și leucocitele 3% ; zincul plasmatic este legat labil de proteinele serice într-o proporție de 1/3, iar restul de globuline. În eritrocite zincul se găsește aproape în totalitate în anhidraza carbonică și numai într-o fracțiune foarte mică asociat cu alte zinc-enzime (329). În leucocite se găsește legat de proteine și nu prezintă o activitate enzimatică cunoscută (329).

În perioada ciclului menstrual, zincul seric suferă variații, ciclice, analoage cu cele ale cuprului, valorile cele mai ridicate fiind găsite în timpul ovulației.

În secreția endometrială și cervicală conținutul zincului scade la 0,42 μg/100 g între a 14 și a 15 a zi a cicluui, comparativ cu 1 μg/100 g la începutul lui ; valori maxime 2,02 μg/100 g au fost înregistrate înaintea menstruației ; în secreția endometrială valorile zincului cresc succesiv de la 12,9 μg/100 g la începutul ciclului la 24,5 μg/100 g (17a) la sfîrșitul lui.

Concentrația zincului este semnificativ inferioară la femeile care au utilizat preparate anticoncepționale orale (17a). La gravide concentrația zincului seric este scăzută, dar crescută în eritrocite (297).

La copii nou născuți conținutul în zinc al eritrocitelor este de 1/4 din valoarea întîlnită la adult și crește progresiv în primii 12 ani.

Conținutul zincului seric și într-o măsură mai mică în lapte, constituie un bun indicator al statusului său pînă la satisfacerea concentrației sale normale, peste care orice aporturi suplimentare nu modifică concentrația sa sanguină (191).

Zincul manifestă o dinamică activă, influențată în mare măsură de aport, în sînge, lapte, pancreas, o dinamică mai lentă în ficat, rinichi, oase, păr și rămîne puțin afectat în mușchi.

Variații însemnate ale zincului apar în diferite maladii. Așa de exemplu zincul prezintă valori anormale în ateroscleroză , tumori maligne, infarct miocardic, anemie pernicioasă netratată, ciroza postalcoolică și alte afecțiuni hepatice (262, 328) hipertonie, hipertiroidism, tuberculoză activă (73), prostatită, carcinom și adenom prostatic, infecții acute și cronice, răni și arsuri, acrodermatita enterohepatică, nefroză, etc. Scăderea conținutului Zn din leucocite în leucemie cronică și alte boli neoplastice poate constitui un test de diagnostic al cancerului.

În anemie refractară, însoțită de leucopenie cu leucocitoză sub 2 000/mm³, zincul din leucocite crește de 3—10 ori. În unele afecțiuni dermatologice (psoriazis, eritem endocrin, vitiligo) conținutul în zinc al serului scade, iar în eczeme seboreice, crește (261). Laptele de mamă și cel de vacă conține 3—6 μg/ml Zn (116, 328) legat în cea mai mare parte de caseină. Ouăle de găină conțin 0,7—1 mg Zn, asociat cu v i t e l i n a, componentă proteică a lipovitelinei.

3.7.2. Metabolism

Metabolismul zincului, studiat de diferiți autori cu ajutorul izotopului radioactiv ^{65}Zn, este influențat de o serie de antagoniști (Ca, Cd, fitina, arginina, Cu) (8)

3.7.2.1. Absorbția

Absorbția zincului are loc la nivelul intestinului subțire și mai ales a duodenului în două etape : captarea lui de către mucoasă și transferul lui în sînge. Absorbit sau injectat zincul este încorporat, fixat sau metabolizat în diferite țesuturi cu viteze diferite. Astfel absorbția zincului în oase și SNC este lentă, iar zincul existent în păr nu este accesibil țesuturilor și se pierde prin tăiere. Jnjectat i.v. ^{65}Zn se combină inițial cu proteinele plasmatice pentru a forma o rezervă de zinc plasmatic și mult mai încet cu proteinele intracelulare. Clearance-ul zincului plasmatic, dar nu și cel eritrocitar, apare rapid în țesuturile moi ale organismului și în fecale prin intermediul intestinului subțire.

Acumularea și metabolizarea cea mai rapidă a zincului reținut are loc în pancreas, ficat, rinichi și splină.

Absorbția zincului este influențată de conținutul lui în alimente, forma de ingerare, natura și concentrația altor elemente.

Un aport ridicat de calciu, de fosfat, sau de cupru micșorează absorbția zincului la unele animale. Antagonismul calciu-zinc nu a fost pus în evidență la om. Cadmiul inhibă transferul Zn din peretele intestinal spre seroasă (366) interferîndu-l și în alte sectoare metabolice (88, 367) iar Zn protejează toxicitatea Cd (328). Prezența fitaților în unele surse de proteine, a unor aminoacizi sau a hemicelulozelor și glucidelor vegetale, care pot lega zincul într-o formă greu absorbabilă și puțin disociată, micșorîndu-i disponibilitatea, influențează necesarul lui la șobolani, pui, păsări, porci. Pe de altă parte în mediu intestinal, zincul poate reacționa cu aminoacizii și peptidele existente în alimentație, formînd chelați, ușor absorbabili; de altfel în furaje, zincul se găsește sub formă de complecși anionici. În cazul unui regim alimentar normal se pare că numai 20—40% din zincul alimentar este disponibil.

Absorbția radiozincului, ^{65}Zn, este crescută, respectiv micșorată în stări deficiente sau cu conținut crescut în zinc (223). Interesantă și neelucidată este corelația zinc-porfirine. Porfirina anormal eliminată prin urină și fecale în cazul porfinuriei intermitente acute și a celor declanșate de intoxicații cu plumb, se găsesc sub formă de complex cu zincul, spre deosebire de eliminarea porfiriilor congenitale care au loc fără conjugare cu zincul (267).

În leziunile hepatice alcoolice, apar transformări în metabolismul zincului și plumbului care pot fi utilizate pentru un diagnostic diferențiat. Astfel la alcoolici concentrația zincului în ser este scăzută în funcție de gradul leziunii parenchimului hepatic, în timp ce în sînge, în leziuni hepatice alcoolice cronice, este foarte mult crescută iar activitatea dehidrazei acidului δ-amino-levulinic (ALSD) scăzută (267). În ciroza alcoolică, cu sau fără ascită, concentrația potasiului este scăzută.

3.7.2.2. Excreția

Zincul se elimină prin fecale (10 μg/zi) și mai puțin prin urină. Astfel, 70% din ^{65}Zn administrat pe cale orală la animale, este eliminat prin fecale și numai 0,3% prin urină. Zincul alimentar neabsorbit și o mică cantitate de zinc endogen, secretat în intestinul subțire, prin sucul pancreatic, se elimină prin fecale.

Injectat i.v., 20% se elimină prin fecale și 0,25% prin urină.

Cantitatea de zinc eliminată prin urină de adulții sănătoși este mică, 0,4—1,6 mg/zi, comparativ cu cea ingerată 10—15 mg/zi; ea variază puțin cu conținutul zincului în alimentație și nu crește semnificativ nici la administrare injectabilă.

Eliminarea urinară a zincului este crescută în nevroze, albuminurie, ciroză hepatică postalcoolică, în porfiria hepatică (50, 29), la persoanele înfometate (314) la hipertensivi și la administrare de EDTA.

Administrarea parenterală a Na_2Ca—EDTA la pacienți hipercolesteremici este însoțită de o creștere de zece ori a zincului urinar și de o scădere semnificativă a colesterolului în ser; în administrare pe cale orală, această creștere este numai de 4 ori și nu este însoțită de scăderea colesterolului seric (256).

Eliminarea urinară a zincului este mult crescută prin administrare de complexoni, cu constantă de stabilitate ridicată față de Zn^{2+}, ca EDTA, DTPA și alții (p. 276).

În zonele calde, cantități apreciabile de zinc se elimină prin transpirație.

3.7.3. Carență și acțiune farmacologică

O alimentație deficitară în zinc este însoțită de: întîrzierea creșterii, de anchiloze reversibile și malformații scheletice, scăderea activității osteoblastice și al conținutului său în oase, alopecie și leziuni epiteliale ale pielii, parakeratoză cu cheratinizare excesivă, cicatrizarea slabă a pielii, dezvoltarea și funcționarea gonadelor masculine, afectînd spermatogeneza și dezvoltarea primară și secundară a organelor sexuale, de procesul de reproducere de la oestru la naștere la femei, precum și de scăderea senzațiilor gustative (hipoguenstie) și olfactice (hiposmie) (212).

Carența în zinc este însoțită și de modificări în activitatea zinc-enzimelor sau enzimelor zinc-dependente, influențează sinteza și metabolismul acizilor nucleici, proteinelor și aminoacizilor cu sulf (73, 116). Astfel, Prasad și col. (262) au observat la șobolanii deficienți în zinc, o scădere a activității enzimatice în testicule, a lactatdehidrogenazei (LDH), malatdehidrogenazei (MDH), alcooldehidrogenazei (ADH) și NADH diaforaza; în oase a LDH, MDH, ADH și fosfataza alcalină; în esofag a MDH, ADH și NADH diaforaza; în rinichi a MDH și fosfataza alcalină. Nu au fost observate modificări ale succindehidrogenazei, iar la unele specii de animale a glutamatdehidrogenazei (223).

Nivelele zincului în testicule, oase, au crescut semnificativ, iar activitatea diferitelor enzime a revenit la normal, la creșterea la normal al conținutului în zinc.

Micșorarea în mod diferențiat a activității dferitelor zinc-enzime în cazuri de deficiență al acestuia, se pare că este determinată de tăria legăturii zinc-proteină în enzime. La nivelele limită ale zincului, apoenzimele se comportă ca niște liganzi și intră în competiție pentru ionii

Zn^{2+}, pe care îi fixează cu atît mai ușor cu cît, constantele lor de stabilitate sînt mai ridicate.

Zincul este implicat în producerea și funcția unor hormoni, metabolismul lui fiind afectat de către hormonii sexuali. Astfel Zn este necesar secreției normale a insulinei, iar producția gonadotropinei este redusă la șobolanii cu deficit în zinc, schimbările Zn uterin și al anhidrazei carbonice se pare că sînt controlate, în primul rînd, de progesteronă (363).

Zincul participă la sinteza acizilor nucleici și a proteinelor (73) și este esențial în încorporarea glicinei în glutation, a metioninei în proteinele tisulare și implicit în metabolismul cisteinei (365); se mărește oxidarea lizinei și a leucinei marcate cu ^{14}C în cazuri de deficiență în zinc.

Conținutul proteinelor totale și a ARN-ului în testiculele șobolanilor deficitari în zinc este redus, cu toate că, încorporarea leucinei marcate cu ^{14}C și a adeninei în ARN testicular nu se modifică.

Activitatea ADN și ARN polimerazei ca și a timidinkinazei este redusă iar cea a ribonucleazei crescută în carență de zinc (116).

Suplimentarea cu zinc a organismelor este însoțită de înlăturarea rapidă a deficiențelor observate.

Administrarea orală a sulfatului de zinc a dus la îmbunătățirea clinică a aterosclerozei, ca urmare a facilitării pătrunderii sîngelui arterial în vasele lezate, efectul său manifestîndu-se mai ales la nivelul „vaselor mici".

Conținutul zincului în păr și plasmă este mult scăzută la pacienții cu ateroscleroză și cu infarct miocardic.

Valori scăzute, ale zincului în organism, sînt însoțite de valori ușor ridicate ale hematocritului, leucopenie cu creșterea însemnată a leucocitelor polimorfo-nucleare și scăderea limfocitelor, micșorarea activității fosfatazei alcaline și la unele animale a anhidrazei carbonice.

Compușii zincului au și o acțiune antiseptică, astringentă și antifungică, ca urmare, în ultimele două cazuri, a unui mecanism competitiv al Zn^{2+} cu Mg^{2+} și Mn^{2+}, esențiali activității metabolice a bacteriilor și fungiilor. Sărurile solubile ale zincului, în funcție de concentrație, prezintă în soluție, o acțiune astringentă și corosivă pe mucoase, datorită formării de proteinați insolubili. Oxidul de zinc are o acțiune adsorbantă și protectoare în afecțiuni inflamatorii ale pielii, iar la sărurile acizilor organici predomină acțiunea antifungică.

Între cauzele posibile ale carenței în zinc amintim: regimul alimentar cu conținut sărac în zinc, paraziți care antrenează pierderi cronice de sînge, ingerare de argilă, eliminarea unor cantități însemnate de zinc prin transpirație, malabsorbție cronică, intervenții chirurgi-

cale, arsuri, boli febrile cronice, ciroză hepatică, dialize repetate, ca urmare a unor insuficiențe renale.

Criterii biochimice unice de diagnostic sigur al unei carențe în zinc nu există. Concentrația sa infra optimă constantă în plasmă și ser, dar redusă în păr; unele manifestări clinice ca hipoguestia sau scăderea excreției Zn urinar, pot constitui elemente de diagnostic.

O depletiție a Zn corporal este însoțită de o utilizare necorespunzătoare a azotului (328). Deoarece carența în zinc împiedică dezvoltarea foetusului la șobolani și o depletiție gravă provoacă malformații, s-ar părea că zincul joacă un rol mult mai important în timpul sarcinii și alaptării copilului.

Interacțiunea zincului cu alte metale, mai ales cupru și cadmiu a făcut obiectul a numeroase observații la animale. Se pare că raportul Zn/Cd în țesuturi, influențează metabolismul lipidelor. Concentrația colesterolului crește la un raport ridicat 40 : 1 în regimul alimentar (363). Creșterea excesului de cupru este însoțită de apariția unei carențe de zinc, la porci, care poate fi îndepărtată prin suplimentarea zincului alimentar.

Consecințele pentru sănătate a interacțiunii Zn/Cd (p. 185).

Minimul necesar în zinc este dependent de: alimentație, vîrstă, activitatea funcțională a organismului animal, temperatură. El este mai ridicat la animalele în creștere, la masculi și femele reproducătoare, comparativ cu cele adulte sau nereproducătoare de aceeași specie

Surse de zinc. Conținutul zincului în alimente variază în limite largi; la polul inferior se află zahărul rafinat, fructele și citricele cu un conținut sub 1 ppm, iar la celălalt grîul încolțit, carnea, ouăle, nucile, tărîțele 40—120 ppm și stridiile peste 1 000 ppm (284) conținutul făinei este inferior semințelor de grîu. Conținutul în zinc al alimentelor poate fi favorabil influențat de natura solului și a tratamentelor aplicate.

Produsele alimentare de origină animală constituie o sursă bogată în zinc. Astfel, carnea de bou, porc, oaie poate conține 20—60 μg/g, cea de pește aproximativ 15 μg/g, laptele 3—5 μg/g, iar brînza 15—50 μg/g (328).

Alimentele furnizează organismului adult 5—22 mg Zn/zilnic. Consumul ridicat de pîine de grîu și legume, cu conținut ridicat în fitați, pare a micșora disponibilitatea zincului din alimente. Ea mai poate fi afectată de Na_2-EDTA, Na_2 Ca-EDTA, D-penicilamina care măresc excreția zincului.

Ținînd seama de concentrația zincului în țesuturile lipsite de grăsimi, de aproximativ 30 μg/g și de masa țesuturilor fără grăsimi, cu un conținut de 2 g zinc în țesuturile moi ale bărbaților și de 1,2 g în cele ale femeilor adulte, o estimare provizorie a cerințelor în zinc alimentar ale organismului uman, în funcție de pierderi și disponibilitate presupusă, poate fi urmărită în tabelul 13.

Tabelul 13

Estimarea provizorie a necesarului în zinc alimentar în funcție de pierderi și disponibilitate presupusă (363)

Etate	Retenție maximă zilnică (mg)	Excreție urinară (mg)	Excreție sudorală (mg)	Nevoi totale (mg)	Cantitate în mg necesară zilnic în alimentație, dacă proporția de zinc disponibilă este de: 10%	20%	40%
Sugari							
0 — 4 luni	0,35	0,4	0,5	1,25	12,5	6,3	3,1
5 — 12 luni	0,2	0,4	0,5	1,1	11,0	5,5	2,8
Bărbați							
1 — 10 ani	0,2	0,4	1,0	1,6	16,0	8,0	4,0
11 — 17 ani	0,8	0,5	1,5	2,8	28,0	14,0	7,0
18 ani	0,2	0,5	1,5	2,2	22,0	11,0	5,5
Femei							
1 — 9 ani	0,15	0,4	1,0	1,55	15,5	7,8	3,9
10 — 13 ani	0,65	0,5	1,5	2,65	26,5	13,3	6,6
14 — 16 ani	0,2	0,5	1,5	2,2	22,0	11,0	5,5
⩾17 ani	0,2	0,5	1,5	2,2	22,0	11,0	5,5
Femei însărcinate							
0—20 săptămîni	0,55	0,5	1,5	2,55	25,5	12,8	6,4
20—30 săpt.	0,9	0,5	1,5	2,9	29,0	14,5	7,3
30—40 săpt.	1,0	0,5	1,5	3,0	30,0	15,0	7,5
Femei care alăptează	3,45	0,5	1,5	5,45	54,5	27,3	13,7

(zincul din oase nu a fost luat în considerare; excreția prin transpirație a fost considerată ca 1 mg/sudcare, iar cerințele pentru alăptare 5 mg/l lapte cu o secreție de lapte zilnică de 650 ml).

3.7.4. Toxicitate

Între cantitățile de zinc necesare nevoilor alimentare ale organismului și dozele toxice se pare că există o limită largă. Organismul uman poate absorbi, perioade lungi aproximativ 200 mg Zn elementar în doze zilnice fracționate, fără efecte toxice aparente (212).

Intoxicația cu zinc are loc, de obicei, prin ingerarea sărurilor sale, sau prin inhalarea pulberii, simptomele fiind dependente de calea de acces.

Ingerarea de săruri solubile, însoțită de o acțiune locală asupra tractului gastrointestinal, cauzată de precipitarea protoplasmei din mucoase, este urmată de: grețuri, vărsături, diaree, dureri abdominale.

Inhalarea pulberii de zinc duce la „f e b r a d e f u m m e t a l i c" caracterizată prin : frisoane, febră și leucocitoză mare.

Zincul administrat în doze ridicate într-un regim alimentar poate produce efecte antagoniste asupra altor bioelemente și deficiențe secundare ale Cu, Fe, Cd însoțite de anemie și osteoporoză.

Toxicitatea zincului la păsări și mamifere este redusă și este inferioară la rumegătoare comparativ cu animalele nerumegătoare ;

Indivizii mai tineri prezintă o sensibilitate superioară la concentrații mărite, de zinc, comparativ cu cei mai vîrstnici (74).

BIBLIOGRAFIE

8, 10, 11, 17 a, 63, 73, 88, 116, 122, 191, 212, 223, 256, 261, 262, 267, 284, 297, 314, 324 a, 328, 329, 363, 365, 366, 367.

3.8. Manganul (Mn)

3.8.1. Generalități, distribuție

Element tranzițional de tip d, cu configurația electronică exterioară $3d^5 4s^2$ și o concentrație de 0,08% în scoarța terestră, unde se găsește sub formă de oxizi, carbonat, ($MnCO_3$) și silicat, ($MnSiO_3$), insolubili, manganul este un element esențial plantelor și animalelor (1, 2, 39).

Component al unor metaloproteine (piruvatcarboxilaza) diamin oxidaza (361) și catalizator al activității unor enzime (polimeraza, galactotransferaza, arginaza, fosfataza alcalină, fosfataza acidă), manganul are un rol important în sinteza proteinelor, a mucopolizaharidelor cartilagiului (176), a colesterolui, în reacțiile de fosforilare oxidativă și în metabolismul grăsimilor, creșterea osului, toleranța la glucoză, reproducerea și dezvoltarea urechii interne.

Manganul pare a fi direct implicat în centrele acumulării de sarcină a sistemului de oxidare a apei din fotosistemul II, (P.S. II) din plantele verzi ; cloroplastele plantelor verzi conțin două pool-uri de mangan dintre care cel mai labil conține aproximativ două treimi din manganul cloroplastelor și este direct legat de evoluția oxigenului (217). Se pare că manganul ar acționa sub formă de combinație complexă templată spre a aduce doi atomi de oxigen destul de aproape pentru a forma legătura O—O în timpul procesului de oxidare al apei (319a).

Distribuție. Conținutul manganului în organismul uman adult (70 kg) variază între 12—20 mg (176, 342), ceea ce reprezintă numai 1/5 din cuprul total și 1/100 din zinc ; Mn este distribuit în toate te-

suturile și fluidele tisulare, în concentrații caracteristice pentru diverse organe, care variază puțin în cadrul aceleeași specii. Concentrația Mn este superioară în țesuturile bogate în mitocondrii, ca fiind asociată cu prezența melaminelor, porțiunile pigmentate ale ochiului fiind deosebit de bogate în Mn ca și în Zn și Cr. De altfel, porțiunile pigmentate ale conjunctivei, părul și penele mai intens colorate au un conținut superior, în Mn, comparativ cu cele mai puțin pigmentate (54).

Concentrația Mn în oase, ficat, rinichi, pancreas și hipofiză între 1—3 ppm, este superioară altor organe (130, 328); mușchii scheletului au un conținut sărac în Mn (0,1—0,2 ppm) (89, 328) iar cel al oaselor poate varia substanțial în funcție de aportul alimentar, sex și vîrstă (56). Astfel, sînt citate valori de 0,6 și 0,8 ppm Mn în oasele șobolanilor și puilor hrăniți cu diete deficitare în Mn, comparativ cu valorile de 2,2 ppm în oasele animalelor normale.

Manganul existent în schelet legat sub formă anorganică, nu constituie un depozit mobilizabil al acetuia (328). Astfel, păsările hrănite cu diete bogate în Mn în perioada formării ouălor și cu diete sărace, în cea a ouării, pierd pînă la 100 μg Mn, care provine, în cea mai mare parte, din ficat, piele și pene și numai 8 μg din schelet.

Tendința de acumulare a Mn în ficat la creșterea concentrației lui alimentare este mult redusă, comparativ cu acumularea Cu și Fe; de altfel ficatul uman, al iepurilor, cobailor, porcilor și șobolanilor nou născuți nu dispune de nici o rezervă în Mn, concentrația lui în ficat variind puțin cu vîrsta și cu specia. Astfel, ficatul uman conține circa 6—8 ppm Mn, raportat la substanța uscată, cel al găinilor, oilor și vitelor 8—10 ppm, iar al ierpurilor, cobailor și șobolanilor 6—8 ppm.

Manganul nu se acumulează semnificativ cu vîrsta nici în plămîni, unde concentrația sa medie este $0,22 \pm 0,12$ ppm; concentrația sa este semnificativ inferioară în țesutul pulmonar al celor suferinzi de cancer pulmonar.

Conținutul de mangan în păr, lînă și penele animalelor este dependent de aportul alimentar și variază între 3,9—49,9 ppm, cu o medie de 15,8 ppm, în părul vitelor, 18,7 ppm în lîna mieilor și 11,4 ppm în pielea și penele găinilor; părul uman conține aproximativ $1,2 \pm 0,6$ ppm (122).

Concentrația manganului în sînge este redusă și variază în medie la 24 ± 8 μg/l, distribuit în mod egal între celule și plasmă (328); al serului de 1,42 μg/l, al hematiilor 23, $57 \pm 1,2$ μg/l (84); crește mult în ocluzia coronariană și poate constitui, după Hedge și col. (144c) un criteriu de diagnostic pentru infarctul miocardic, superior determinării transaminazei glutamicoxalacetice serice (GOT). Concentrații semnificativ crescute ale Mn se întîlnesc în hematiile bolnavilor de artrită reumatismală, fără a afecta conținutul său în ser.

Laptele de vacă conține 30 μg/l, de oaie 40 μg/l, concentrație care poate crește de 2—4 ori la administrarea de 10—13 g Mn/zi, sub formă de $MnSO_4$, iar în colostru între 130—260 μg/l (322); laptele uman are un conținut inferior în mangan 0,007—0,40 μg/ml. Ouăle conțin 10—15 μg Mn, cu o concentrație de 4—5 ori mai mare în gălbenuș, coaja fiind practic lipsită de mangan (130, 328).

În țesuturi, manganul este legat de proteine formînd metaloproteine, ca de exemplu, piruvat-carboxilaza, izolată din mitocondriile de pui arginaza hepatică, se mai găsește sub formă de combinații celulare labile, de chelați micromoleculari și a fost identificat, alături de alți cationi bivalenți sub formă de combinații complexe, în ARN și ADN.

În eritrocite, manganul este puternic legat de porfirine, sub formă de compuși nedializabili care nu participă la reacții de schimb sau de chelatare (328).

După Fore și Marton (89), 20% din manganul existent în ficat și rinichi sub formă de arginază este slab legat, în timp ce majoritatea manganului din retină este nedializabil, iar cel din oase, este legat de componenta anorganică și numai în mică măsură de matricea organică.

3.8.2. Metabolism

Absorbția, distribuția și excreția manganului a fost studiată cu ajutorul ^{54}Mn. Ingerat pe cale orală este eliminat prin fecale într-o proporție de 95—98%, fiind reținut sub 10% din cantitatea ingerată (322). Mecanismul de absorbție gastro-intestinală al Mn este puțin cunoscut; un exces alimentar de calciu sau de fosfor, micșorează disponibilitatea Mn, ca urmare a absorbției unei părți de Mn solubil de către $CaCO_3$ și $Ca_3(PO_4)_2$ insolubili (178). Administrat sub formă de carbonat (rodocrosit) sau de silicat (rodonit) insolubili, este puțin absorbit. Lactoza administrată concomitent, stimulează absorbția Mn, în timp ce glucoza și sorbitolul îi reduc retenția. Substanțe chelatante ca EDTA, NTA, acidul oxalic, tetraciclina, betaciclina, fitatul de calciu, reduc disponibilitatea Mn.

În organismul uman manganul este repartizat în țesuturi și lichide astfel:

Țesuturi	μg/kg	Lichid organic	μg/l
Ficat	1,3	Plasmă	1,8—3,1
Creier	0,99—1,24	Salivă	60
Plămîni	0,4		
Unghii	1,0		
Păr	0,01—0,046		

După Lassiter și col. (177) excreția prin fecale a ^{54}Mn, administrat parenteral la șobolani, a fost superioară, și retenția hepatică inferioară la un aport de 1% calciu, comparativ cu 0,6% calciu. Calciul influențează metabolismul manganului prin afectarea atît a retenției Mn absorbit, cît și a absorbției sale, din care cauză terenurile calcaroase sînt propice insuficienței sale (178, 328). S-a constatat că fierul este antagonist al manganului, rații prea bogate în fier pot provoca o insuficiență hepatică (122).

Absorbit Mn se leagă în sînge de transferină numai în prezența unui oxidant (ceruloplasmină, oxigen molecular); o parte din Mn resorbit se găsește liber sau legat reversibil de α-2-macroglobulină, ceea ce permite ușoara lui mobilizare de către ficat, în timp ce Mn-transferina este mai stabilă (100).

Excreția ^{54}Mn, administrat i.p. nu este afectată de variații ale fosforului alimentar, dar este micșorată la administrarea lui orală.

Manganul se excretă aproape în totalitate prin fecale, 0,5—8,29 μg/24 ore, calea biliară reprezentînd cea mai importantă cale de eliminare și este principalul mecanism de reglare a homeostaziei (130, 328). În cazul supraîncărcării căii biliare eliminarea Mn are loc și prin intermediul sucului pancreatic în cazul blocării căilor biliare sau a supraîncărcării cu Mn (328) și chiar prin duoden și jejun, iar în mică măsură și prin ileon-ul terminal.

Eliminarea Mn prin urină este redusă: (0,2—1,4 μg/24 ore); ea crește la administrare de agenți de chelatare și, probabil, la nefritici.

Administrat parenteral, ^{54}Mn, dispare rapid din circulație, clearance-ul său cuprinde 3 faze: prima, cu cea mai rapidă viteză, sugerează mișcarea normală transcapilară, cea de a doua, corespunde pătrunderii Mn în mitocondriile tisulare, iar ultima, cea mai lentă, acumulării lui în nuclee (176). Cinetica clearance-ului sanguin și a reținerii Mn în ficat sînt aproape identice și arată că între manganul din sînge și cel din mitocondriile hepatice se stabilește rapid un echilibru.

Administrarea de hormoni glucocorticosteroizi este însoțită de o deplasare a repartiției Mn din ficat în cortexul suprarenal. Transferul transplancentar al Mn, este redus (84).

3.8.3. **Carența și acțiunea farmacologică.**

Carența în mangan este însoțită, la animale, de o creștere întîrziată, anomalii de schelet, afectarea funcției reproductive, a căror intensitate este dependentă de gradul și durata deficienței impuse, specia, vîrsta sau stadiul de creștere al animalului, de malfuncții ale s.n.c., tulburări în metabolismul mucopolizaharidelor, grăsimilor și al lipidelor (123). În carență, Mn scade în ficat, păr, rinichi, măduva spinării, splină, cord, ovar și rămîne puțin modificat în mușchi, pancreas.

Manganul influențează funcția reproductivă printr-o ovulație deficitară, degenerare testiculară, creșterea procentuală a prematurilor, mortalitatea puilor sau chiar prin sterilitate, în funcție de carență, el fiind un element necesar fertilității normale a animalelor (144 c). Locul precis și modul de acțiune al Mn în funcția reproductivă a animalelor este puțin cunoscut. La șobolani și iepuri, sterilitatea și absența libidoului este asociată, la carența în mangan, cu degenerarea tubulară seminală, lipsă completă de spermatozi și acumulare de celule degenerate în epididim, ceea ce indică interesarea lui specifică în spermatogeneză.

Lipsa manganului în timpul sarcinii produce un defect congenital ireversibil la puii de șobolani și cobai, caracterizat de ataxie, pierderea accentuată a echilibrului, retracția capului, tremor, dezvoltarea întîrziată a reflexelor și a orientării (144). În gestația șobolanilor aceste efecte apar între 14 și 18 zile ; suplimentarea dietei cu mangan în zilele a 15 — 16-a de la gestație, duce la îmbunătățirea efectelor amintite la pui, în timp ce, după a 18-a zi prevenirea ataxiei nu mai are loc (144).

Studii histologice asupra măduvei și creierului, ca și determinarea unor enzime din ficat, creier și alte țesuturi, inclusiv a acetilcolinesterazei nu au evidențiat leziuni care să explice ataxia neonatală (144). În schimb, funcția vestibulară defectuoasă a urechii interne, ca urmare a carenței în Mn, care influențează sinteza mucopolizaharidelor în cartilagii și deci în dezvoltarea osoasă a craniului, în special a otolitelor în cursul vieții fetale, constituie principalul factor cauzal al ataxiei și al manifestărilor arătate. Suplimentarea prin alimentație, în timp util, a manganului necesar animalelor gravide, duce la înlăturarea afecțiunilor amintite.

Conținutul în mangan crește în timpul sarcinii de la 1,5 μg/ml în săptămîna a 16-a la 20 μg în săptămîna a 38-a.

Dezvoltarea și maturitatea scheletului este influențată de conținutul în Mn, care nu este implicat în osteogeneză ci în condrogeneză, condroitinsulfatul necesitînd prezența glicoziltransferazelor dependente de Mn^{2+}; de asemenea manganul este implicat și în formarea cojii ouălor (328).

Prin intermediul piruvatcarboxilazei, Mn acționează asupra gluconeogenezei și prin rolul său de activator al glicoziltransferazelor asupra sintezei polizaharidelor și glicoproteinelor (328).

Manganul este activator a numeroase enzime : arginaza hepatică, fosfataza, colinesteraza, fosfoglucomutaza, piruvatkinaza, adenilatkinaza, etc. Manganul participă la oxido-reducerea celulară, la hematopoeză, la osificare, intervine în funcția antitoxică hepatică, potențează vitaminele B_1 și C, hormonii gonadotropi, hipofizari și adrenalină. Administrat la diabetici are un efect hipoglicemiat, pancreatomia și diabetul fiind corelate cu concentrația scăzută a Mn în sînge și țesuturi. Nu se știe dacă Mn intervine sau nu în sinteza insulinei, însă concentrații scăzute

de mucopolizaharide apar în pielea șobolanilor tineri născuți din mame diabetice.

Manganul are o acțiune lipotropă și intervine în metabolismul lipidic; stimulează sinteza hepatică a colesterolului și a acizilor grași la șobolani, ionul Mn^{2+} acționînd ca un cofactor la conversia acidului mevalonic în squalen sub acțiunea mevalonatkinazei (328). Aporturi suplimentare de Mn(II) și colină reduc lipidele osoase și hepatice la șobolani, cît și depunerea și grosimea grăsimei la porci.

Activitatea arginazei hepatice este mult micșorată la șobolani și iepuri cu o alimentație deficitară în Mn(II); ea crește mult în vitro dar nu și în vivo, prin suplimentare de mangan (328).

Asociat cu ARN intervine în sinteza proteinelor și în fosforilarea oxidativă.

Deficit de mangan s-a constatat în infract miocardic și alte boli cardiovasculare, tulburări gastrice, iar date recente indică rolul manganului în tulburări neurologice. Astfel Tanaka și colaboratorii (319 *q*) au asociat convulsiile observate la copii cu conținutul sub normal al manganului în sînge; mamele copiilor aveau de asemenea nivele scăzute ale manganului în sînge, (130). A fost stabilită și o corelare între nivelele manganului și cel al catecolaminelor în creier (8, 54). Nivelele ridicate de mangan în dieta șoarecilor induce creșteri inițiale în nivelele catecolaminelor cerebrale.

3.8.4. Surse de mangan

Nevoile alimentare ale organismului în mangan variază între 2,0—8,8 mg/zi (328). Regimurile alimentare bogate în carne, zahăr, lapte și cereale decorticate sînt sărace, în timp ce cerealele nedecorticate, grăunțele, legumele verzi, nucile și ceaiurile, au un conținut ridicat în mangan 20—22,7 ppm. O ceașcă de ceai conține pînă la 1,3 mg mangan față de 0,15 cît conține una de cafea.

Un bilanț pozitiv al manganului se întîlnește la persoanele sănătoase, la care aportul alimentar variază între 2,47—10,7 mg Mn/zi (8). Se pare că un aport de 2—3 mg Mn/zi este suficient pentru adulți.

În primele 6 luni ale vieții, aportul alimentar zilnic în mangan variază între 2,5—25 μg/kg corp, după natura laptelui utilizat și cantitatea alimentelor solide consumate. La copii de 1—3 ani normal hrăniți, aportul zilnic în mangan este de aproximativ 2 500 μg sau 150—200 μg/kg corp, bilanțul lui fiind pozitiv (122).

3.8.5. Toxicitate

Manganul este puțin toxic pentru mamifere și pentru păsări. Nu se cunosc intoxicații alimentare.

În ceea ce privește intoxicațiile cronice cu mangan, întîlnite în industria extractivă, și a bateriilor electrice, ele produc așa-zisa, „l o c u r a m a n g a n i c a", cu manifestări similare schizofreniei; ele sînt ameliorate prin administrare de levodopa (1-dihidroxifenilalanină) (273).

BIBLIOGRAFIE

8, 54, 55, 57, 82, 84, 89, 100, 109, 122, 123, 130, 144, 144 a, 176, 177, 178, 217, 273, 319 a, 322, 328, 342, 343, 361, 363, 364, 365, 366, 367.

3.9. Molibdenul (Mo)

3.9.1. Generalități, distribuție

Molibdenul element tranzițional de tip *d*, situat în subgrupa VI-a perioada a 5-a a sistemului periodic, cu configurație electronică : $4d^4\ 5s^2$, are largi utilizări, ca atare sau sub formă de compuși, în industria aliajelor feroase în scopul îmbunătățirii rezistenței mecanice, chimice și termice, ca inhibitor de coroziune și pigment anticorosiv (molibdați), lubrifiant (MoS_2), catalizator a numeroase reacții chimice industriale, inclusiv purificarea petrolului și gazeificarea cărbunilor (263); Mo este singurul element tranzițional din seria 4d sau 5d esențial organismelor vii.

Component al enzimelor flavoproteice (xantinoxidaza și xantindehidrogenaza) cu rol catalitic în oxidarea xantinei în metabolismul purinic, a nitrogenazei, enzimă care reduce azotul molecular la amoniac, a aldehidoxidazei și sulfitoxidazei, care oxidează aldehidele la acizi carboxilici, respectiv sulfiții la sulfați, molibdenului i se acordă în ultimii ani, o importanță crescută și în sisteme biologice (225). Are un rol important în ciclul azotului (p. 233) fiind esențial pentru fixarea lui biologică (64, 158). Molibdenul favorizează creșterea unor specii de animale (328), este implicat în desfășurarea proceselor biochimice rumenale (conversia sulfatului în sulfură (380) și exercită efecte asupra țesutului conjunctiv (150).

Molibdenul prezintă antagonism cu cuprul, observat la animale încă din 1938. Astfel pășunile bogate în Mo produc la oi o deficiență de cupru, care poate fi atenuată prin suplimentarea hranei cu cupru, în timp ce pășunile sărace în Mo favorizează acumularea cuprului în țesuturile oilor și pot reduce, în anumite condiții, intoxicații cronice cu cuprul.

În ceea ce privește rolul preventiv sau ameliorant al Mo în cariile dentare, datele din literatură sînt contradictorii și problema necesită noi investigații.

Se pare că un consum de 10—15 mg Mo/zi ar fi însoțit de o incidență ridicată a gutei (263). Implicațiile Mo în alimentația umană, în starea de sănătate sau de boală sînt puțin cunoscute și cercetate, concentrația sa în organism este determinată de conținutul în sol, alimente și apă. Aportul alimentar mediu este variabil, după unii de aproape 200 μg/Mo/zi, iar alții de numai 75 μg/zi. Retenția Mo în organismul uman poate fi dependent de aportul de proteine ; astfel la un aport ridicat de proteine, aproximativ 2,5 g/kg corp, este scăzut și crește de aproape 5 ori la un aport de 0,7 g proteine/kg corp.

Distribuție. În țesuturile și fluidele organismelor animale Mo, se găsește în concentrații reduse, sub 9 mg total, inferioare manganului, independent de vîrstă. Cele mai ridicate cantități se găsesc în ficat și rinichi. Astfel, în organismul uman adult, ficatul conține 3,2, rinichii, 1,6, splina 0,20, plămînii 0,15, creierul 0,14, mușchii 0,14 ppm substanță uscată, sîngele 1,5 μg/100 ml, cu o distribuție uniformă în plasmă și hematii. La leucemici, concentrația Mo în sîngele integral și în eritrocite, dar nu și în plasmă, este crescută. În anemii conținutul Mo în sînge le total, eritrocite și mai ales în plasmă este substanțial redus. În anemiile post-hemoragice conținutul Mo în sînge scade ; de altfel în anemii, conținutul în Mo al eritrocitelor este redus datorită micșorării conținutului său în fracțiunea proteică nehemoglobinică a celulelor. Deoarece anemiile feriprive sînt însoțite și de o deficiență a Mo, în tratamentul lor terapeutic, ca și în anemiile produse de cancer, se recomandă administrarea unor preparate care conțin Mo și Cr, alături de fier.

Concentrația Mo în ficatul animalelor care au primit o alimentație normală, variază între 2—4 ppm, și este independent de vîrstă ; în cursul sarcinii Mo nu este depozitat, în mod normal, în ficatul fetal. În ficatul meilor nou născuți, de la oi care au beneficiat de aport alimentar de Mo ridicat, concentrația sa este de 3—10 ori mai mare, ceea ce înseamnă că el traversează ușor bariera placentară a oilor (59). La îngerări suplimentare de Mo, concentrația lui în ficatul oilor și al vacilor poate atinge 25—30 ppm ; la sistarea administrării suplimentare a Mo, aceste valori revin ușor la normal.

Conținutul Mo în organismele animale este influențat, în mare măsură, de acela al sulfaților anorganici existenți în alimentație. În sîngele oilor și viteilor care pasc pe terenuri cu conținut normal de cupru, dar sărace în Mo, concentrația acestuia este în medie de 1 μg%, sau chiar de 6 μg% (59). Administrarea suplimentară de molibdați, în cantități echivalente unui raport de 30 ppm Mo, este însoțită de creșterea lui în sînge la 60—80 μg/100 ml la vitele tinere și la 240—340 μg/100 ml la vitele gestante.

Creșterea aportului Mo în hrană este însoțită de creșterea lui în sînge, pînă la o valoare constantă, dependentă de cantitatea de Mo

ingerată zilnic. Astfel după Dick și col. (65) concentrația Mo în sînge crește de la 2 μg Mo/100 ml sînge integral, la 495 μg/100 ml la o creștere zilnică a aportului Mo de la 0,4 mg la 96 μg.

Deși conținutul Mo în laptele diferitelor specii de animale, stadiul lactației etc., sînt contradictorii, chiar și pentru cele hrănite cu aceeași alimentație, principala cauză a diferențelor semnalate este atribuită conținutului în Mo și sulfat al hranei lor zilnice. Așa de ex. conținutul în Mo al laptelui variază mult cu aportul lui alimentar la vaci, capre și oi. Astfel, concentrația în Mo a laptelui de vacă, care variază între 18—120 μg Mo/l, cu o medie de 73 μg, crește la o medie de 371 μg/l, la administrarea zilnică în hrană a 500 mg Mo sub formă de molibdat de amoniu.

La adăugarea în hrana zilnică a unei vaci a 50 mg sau a 100 mg molibdat de sodiu, Hart și col. (126 *b*) a obținut o creștere a Mo în laptele de vacă de la 20—30 μg/l la peste 40 μg/l, respectiv la 60 μg Mo/l.

Conținutul în Mo al laptelui oilor care au păscut pe pășuni avînd sub 1 ppm și 13 ppm Mo a fost în medie sub 10 μg Mo/l, în primul caz și a ajuns pînă la 980 μg/l în cel de al doilea caz.

Prezența sulfaților reduce simțitor conținutul Mo în lapte. Astfel, conținutul Mo în lapte a scăzut de la 1 043 μg Mo/l la oile care au păscut pe pajiști cu 25 ppm Mo, la 137 μg Mo/l, la un aport zilnic de 23 g sulfat de sodiu (328).

În laptele de vacă Mo este legat de xantinoxidază, a cărei cantitate și activitate nu variază la creșterea Mo în lapte, după administrare orală de molibdat (126 *b*). Activitatea xantinoxidazei din lapte scade la ingerarea unor doze pînă la 6 g wolframat de sodiu la capră și pînă la 20 g la vacă, în perioada precoce lactației.

În lîna oilor conținutul Mo este de 0,16 ppm. Conținutul variabil al Mo în alimentație este reflectat la oi prin modificări corespunzătoare, mai ales în ficat, rinichi, oase, piele și lînă.

3.9.2. Metabolism

Studii privind absorbția și eliminarea Mo, efectuate cu ^{99}Mo stabil și radioactiv au arătat că molibdații solubili în apă, adică cei ai metalelor alcaline și de amoniu, sînt ușor și rapid absorbiți de animale (328). Absorbția Mo sub formă de compuși mai greu solubili, ca M_0O_3, sau insolubili, $CaMoO_4$ este dependentă de specia animală. Astfel, iepurii și cobaii absorb ușor Mo, administrat în doze ridicate sub formă de MoO_3 sau $CaMoO_4$, dar nu și sub formă de MoS_2. În ceea ce privește viteza de absorbție, concentrația maximă a Mo în sîngele porcilor are loc după 2—4 ore, iar la viței după 96 ore (23). Peste 75% din ^{99}Mo administrat oral sau i.v. la porci este eliminat prin urină în 120 ore; la vite, numai

15% se elimină prin urină în 168 ore. Calea principală de eliminare are loc prin fecale (23).

Absorbția, eliminarea și toxicitatea Mo este influențată mult de conținutul sulfaților anorganici solubili (23), care interferează Mo prin reducerea absorbției și retenției interstițiale și creșterea excreției urinare și chiar împiedică transportul lui prin membrană la concentrații suficiente. O acțiune similară o au și sulfații endogeni din care cauză, o hrană bogată în metionină sau cistină sau administrare de tiosulfat de sodiu, acționează în același mod, datorită oxidării S la sulfat. Efectul produs de anionii sulfat este foarte specific la oi și nu se întîlnește la wolframați, silicați, fosfați, malonați, citrați sau permanganați (263, 225, 12). Micșorarea toxicității Mo la șoareci, la administrare de sulfați alcalini, nu are loc la înlocuirea SO_4^{2-} cu citrat, tartrat, clorură, bromură sau azotat.

Absorbția intestinală a Mo nu este influențată de prezența cuprului, datorită formării unui complex care favorizează și oprește întrebuințarea Cu, din care cauză, activitatea ceruloplasminei scade mult.

Aporturi mari de sulfat pot bloca sau antagoniza efectul limitativ al Mo asupra retenției cuprului la oaie, chiar în prezența unor cantități corespunzătoare de sulfat (263, 225, 12).

În ceea ce privește efectele limitative ale Mo și sulfatului asupra retenției cuprului, în cadrul interacțiunii cupru—molibden—sulfat, se admit următoarele ipoteze:

— ionul sulfat micșorează sau blochează permeabilitatea membranei pentru Mo (65);

— fixarea ionului Cu^{2+} în tractul digestiv sub formă de CuS, insolubilă și deci neaccesibilă pentru absorbție;

— scăderea activității sulfuroxidazice însoțită de acumularea de sulfuri în țesuturi care produc precipitarea CuS, insolubilă (225, 263),

— formarea unui complex, la pH ~ 7 în care raportul Cu : Mo este de 4 : 3, din care cuprul este inaccesibil pentru porci și oi.

Administrarea simultană de molibden și sulfat, reduce încorporarea radiocuprului și concentrația cuprului stabil, afectînd astfel sinteza ceruloplasminei și reduce concentrația cuprului stabil din ficat și din fracțiunea de ceruloplasmină din plasmă.

3.9.3. Molibdenul și alimentația umană

Cele mai bogate surse alimentare bogate în molibden sînt: legumele, cerealele (0,12—1,14) ppm, semințele leguminoaselor (0,2—4,7) ppm, ficatul și rinichii. Fructele, rădăcinoasele, produsele lactate și mușchiul de carne au cel mai redus conținut în Mo (328, 225, 263). Făina de grîu

integrală conține 0,30—0,60 ppm, cu o medie de 0,48 ppm Mo, făina albă 0,25 ppm, și este concentrat în mare măsură în stratul lor exterior, care se îndepărtează în cea mai mare parte în cursul măcinării. Laptele de vacă conține între 18—120 μg/l.

Cercetări efectuate pe șobolani cu o dietă carențată în Mo, au arătat că 50—100% din molibdenul total existent în alimentație este utilizat de xantinoxidaza intestinală.

În ceea ce privește efectele favorabile exercitate de Mo asupra incidenței și gravității cariei dentare cît și al efectului fluorului, ele sînt contradictorii, cu toate că din cercetările efectuate de către Buttner (40) rezultă că, la administrarea combinată a 25 sau 50 ppm Mo și 50 ppm fluor în apă, incidența cariilor la șobolani este semnificativ mai redusă, comparativ cu îngerarea apei numai cu 50 ppm fluor. Pe de altă parte Malthus și col. (194) nu găsesc nici o diferență semnificativă între frecvența cariilor dentare la animalele cărora li s-au administrat o combinație Mo + NaF, față de martorii care au primit cantități echivalente de NaF.

Un raport al Comitetului de experți ai O.M.S.-ului din 1974 (363) semnalează existența unei corelații extrem de ridicată a gutei la populația din Armenia (U.R.S.S.) hrănită cu produse alimentare cultivate local și concentrația anormal de ridicată a molibdenului în acele soluri și plante, unde aportul zilnic în Mo este de 10—15 mg, față de 1—2 mg în regiunile învecinate, unde incidența gutei este slabă.

Cercetări efectuate pe oameni și vite din regiune au arătat că expunerea la un aport ridicat de Mo este însoțită de o creștere anormală a concentrației acidului uric în ser și a activității xantin-oxidazei în țesuturi. Experimentări pe șoareci au arătat că pentru un interval larg de concentrație a Mo alimentar, există o corelație pozitivă între activitatea xantinoxidazei tisulare și producerea acidului uric. În opoziție cu ceea ce se întîmplă la rumegătoare, concentrații chiar ridicate de Mo în alimente nu provoacă o carență „secundară" a cuprului (363).

3.9.4. Toxicitate

Toleranța organismelor animale la aporturi alimentare crescute în Mo depinde de specie și vîrstă, cantitatea și forma chimică de îngerare, conținutul cuprului în alimente și consumul de cupru, conținutul în sulfați anorganici, metionină, cistină sau proteine capabile de a fi oxidate endogen la sulfați, precum și de concentrația altor metale, inclusiv a zincului și plumbului.

La animalele domestice toleranța Mo scade de la bovine la ovine, caii și porcii fiind foarte rezistenți. Toleranța șobolanilor, iepurilor,

cobailor și păsărilor la cantități mari de Mo, este inferioară porcilor, dar superioară vitelor. La toate speciile animale, consumul ridicat în Mo este însoțit de o întîrziere în creștere și o pierdere în greutatea corporală ; la unele specii mai apare diareea (bovine), anemie, alopecie și dermatoza (animale de laborator), tulburări osoase (12, 160).

Intoxicația cu Mo, adică m o l i b d e n o z a, dependentă de conținutul în Mo, raportul lui cu cuprul și de prezența sulfaților anorganici sau a unor substanțe organice capabile de a fi oxidate endogen la sulfați, este însoțită la vite de diaree, rar întîlnită la șobolani și neîntîlnită la iepuri și cobai, de anemie și alopecie (328).

Un conținut de 80 ppm Mo sub formă de molibdat inhibă creșterea și induce mortalitatea șobolanilor tineri cu deficit în cuprul hranei lor. Adăugarea a 35 ppm sulfat de cupru (II) în alimentație normalizează creșterea lor (328). Un conținut de 75 ppm cupru în alimentație este însoțită de o creștere redusă la adăugarea de 500—1 000 ppm Mo sub formă de molibdat de sodiu ; creșterea devine normală în prezența a 200 ppm cupru (82).

Prezența fierului, cobaltului și zincului în cantități convenabile sînt ineficienți, în timp ce administrarea a 5% ficat uscat conferă o protecție ridicată pentru 400 ppm Mo.

În intoxicații cu molibden activitatea fosfatazei alcaline din ficatul șobolanilor este scăzută și crescută în rinichi și intestin (5, 82). Substanțial redusă este și activitatea sulfoxidazei hepatice, datorită, se pare, creșterii conținutului de sulfură endogenă, în timp ce aceea a cisteindesulfhidrazei și arilsulfatazei renale sînt nemodificate la animale (82).

Toxicitatea Mo este afectată de raportul Mo : Cu și de conținutul în sulfat al alimentației. Adiția sulfatului este însoțită de o reducere însemnată a depozitelor de cupru, ca urmare a formării Cu_2S, insolubilă, care reduce absorbția cuprului.

Experimental, s-a arătat că șobolanii cu rezerve mici în cupru, și alimentați cu diete sărace în cupru, prezintă simptome toxice la un aport redus de Mo, care se intensifică la adăugare simultană de sulfat. În cazul în care atît rezervele de cupru cît și cuprul alimentar sînt satisfăcătoare, simptomele intoxicației cu Mo apar numai la îngerarea unor cantități mai mari de Mo ; ele nu apar la administrare concomitentă de sulfat.

BIBLIOGRAFIE

12, 23, 35, 40, 59, 64, 65, 82, 109, 126 b, 150, 158, 160, 194, 225, 263, 326, 328, 343, 363, 364, 365, 366, 367, 380.

3.10. Cromul (Cr)

3.10.1. Generalități, distribuție

Metal tranzițional din subgrupa a VI-a, cu configurație electronică $3d^4 4s^2$ și cu largi aplicații industriale și tehnice ca atare, sub formă de aliaje sau de compuși simpli sau complecși, cromul, constituent al fosfoglucomutazei și al unui factor de toleranță la glucoză (G T F—g l u c o s e t o l e r a n c e f a c t o r), cu implicații în homeostazia colesterolului și chiar a trigliceridelor, prezintă interes fiziologic atît pentru plante, animale superioare cît și pentru om (12, 213, 328).

Distribuție. În țesuturile organismului uman, Cr, prezintă o largă răspîndire, în concentrații extrem de mici și de variabile, de ordinul a 0,02—0,04 ppm, extract uscat. Conținutul său total, la adult, este evaluat la mai puțin de 6 mg (326) și nu prezintă nici o specificitate față de anumite țesuturi sau organe. Concentrația în nivelele tisulare scade cu vîrsta, exceptînd plămînii, unde ea crește (287, 324). În foetusul uman, concentrația cromului, ridicată la începutul sarcinii, scade la naștere.

Valorile concentrației cromului în țesuturile umane sub vîrsta de 45 zile, în ppm cenușe, sînt următoarele : pulmon 85, rinichi 52, cord 82, ficat 18 ; între 30 și 40 ani de : 16, 3, 8 ; 2,1 respectiv 1, 8, iar între 70 și 80 ani de : 31, 2, 9, 2, 0 respectiv 1, 1 ; (12).

În păr concentrația cromului este de 0,2—22 ppm, iar în piele de 0,23—0,44 ppm (12, 339).

Variații substanțiale ale cromului în ficatul și rinichiul uman au fost observate în diferite regiuni geografice, ca urmare a unor diferențe alimentare (287).

La animale concentrațiile tisulare sînt de asemenea reduse: 0,04 ppm în ficatul puilor (339) și 0,09 în rinichi, iar la porcii hrăniți cu făină de pește sau cu șroturi de cereale : $0,17 \pm 0,04$ în carne, $0,34 \pm 0,08$ respectiv $0,30 \pm 0,22$ în ficat, $0,64 \pm 0,17$ respectiv $0,42 \pm 0,08$ în rinichi $0,14 \pm 0,03$ respectiv $0,10 \pm 0,03$ în păr (166). La un aport de 1 ppm crom în hrana șobolanilor conținutul cromului este de 1,6 în ficat, 0,45 în cord și 3,7 în rinichi (69).

Concentrația cromului în sîngele uman este de 0,01—0,06 μg/ml plasmă și 0,14 μg/ml ser fiind legat în mare măsură de transferină (328), implicată, probabil, în transportul natural al cromului și concurînd astfel cu Fe(III) (138).

La femeile negravide în plasma periferică concentrația cromului este de $5,62 \pm 0,23$ μg/ml (37) și de $2,86 \pm 0,22$ μg/ml la cele gravide ; diferențe de concentrații identice se întîlnesc și în păr și LCR.

Concentrații ridicate de crom, 1 080 ppm s-au găsit într-o nucleoproteină izolată din ficatul de bou, ca și în preparate de ARN de diferite

surse (336) ; Colostrul de vacă conține 0,067 μg Cr/g. față de 0,013 μg/g laptele de vacă și 0,04—0,08 μg/ml cel uman (328).

3.10.2. Metabolism

Cercetări efectuate cu ajutorul ^{51}Cr au arătat că absorbția Cr(III), administrat pe cale orală, indiferent de starea sub care se găsește în alimente, este redusă ⩽ 1% și dependentă de specie ; la șobolani variază între sub 1% la 10% sau 25% (363).

Absorbția Cr (VI), deși superioară Cr(III), rămîne redusă, cromații solubili fiind eliminați sub formă de complecși insolubili, mai ales prin fecale. Absorbția Cr(III) și a Cr(VI) este superioară la pacienți cu anemie pernicioasă și cu aclorhidrie, comparativ cu martorii, ceea ce presupune o reducere în stomac a Cr(VI) la Cr(III), mai greu absorbabil.

După absorbție, Cr(VI) trece ușor prin membrana hematiilor și este legat de globina din hemoglobină. Cr(III) nu traversează această membrană ; el se combină cu fracțiunea ß-globulinică a proteinelor plasmatice și este transportat, în cantități fiziologice în țesuturi, legat de siderofilină (138, 139).

Eliminarea cromului absorbit are loc mai ales prin urină, 5—10 μg/zi, iar cantități mici prin bilă, intestinul subțire și chiar prin piele.

Retenția și distribuția tisulară a cromului sînt influențate de vîrstă (mai ridicată la tineret) și de conținutul în tractul digestiv, retenția sa tisulară crescînd numai pînă la o limită. Retenția cea mai ridicată are loc în rinichi ; vasele și pielea prezintă o tendință importantă de cumulare.

În oase Cr pătrunde printr-un mecanism de schimb lent, în piele inițial în fracțiunile solubile și apoi în timp, în fracțiunile insolubile ale colagenului (241) ; ficatul fixează mai ușor și mai mult Cr prin administrări parenterale (227).

Cromul intracelular este distribuit în proporție de 46% în fracțiunea nucleară, 23% în supernatant, iar diferența în mitocondrii și microzomi în părți egale (328). Din depozitele tisulare cromul este mobilizat prin administrare de glucoză sau de insulină (37).

Astfel nivelul cromului plasmatic crește sau scade proporțional cu creșterea sau scăderea nivelului glucozei ; absența creșterii cromului plasmatic la administrare de glucoză constituie o deficiență a depozitării și mobilizării cromului tisular disponibil. Creșterea cromului plasmatic a fost indus la șobolani prin administrare de insulină (214), concentrația cromului urinar fiind crescută la diabetici (286).

În ciuda datelor privitoare la prezența cromului stabil la noii-născuți (284), în embrionul uman și sugari (284), cercetări făcute pe șobolani cu ^{51}Cr nu au dat rezultate concludente privitoare la transferul placentar al cromului de la mamă la făt, problemă de interes metabolic special. Se pare că traversarea membranei placentare are loc numai de

către Cr(II) complexat natural, ca cel existent în drojdia de bere și nu de sărurile simple ale acestuia, organismul avînd capacități diferite pentru astfel de transformări.

Disponibilitatea cromului pentru absorbție, distribuție tisulară, trecere prin placentă și metabolism este determinată de natura combinațiilor chimice, anorganice sau organice sub care se găsește (339). Astfel clorura de crom (III) este absorbită de om într-o proporție de 0,5%, iar șobolanii absorb 10—25% din cromul existent în drojdia de bere. Deoarece, injectat, cromul dispare rapid din sînge, concentrația sa nefiind în echilibru cu rezervele țesuturilor, sîngele este indicator mediocru al cromului în organism.

O creștere a concentrației serice a insulinei, ca urmare a administrării ei injectabile sau a administrării orale sau parenterale a glucozei, este însoțită după 30—120 minute de o creștere bruscă a cromului seric. La tineri sau la persoane care au primit crom suplimentar, această creștere este de 5 ori mai mare decît concentrația sa à jeun și are valori neglijabile la persoanele în etate. Administrarea a 150 μg Cr/zi poate restabili și la acestea un răspuns normal. Deoarece, o parte din cromul administrat și excretat prin urină poate fi determinat, fenomenul poate constitui un indicator al stării nutriționale a cromului (363).

3.10.3. Carență și acțiune farmacologică

La om, carența cromului este însoțită de tulburări ale metabolismului glucozei, proteinelor și lipidelor, de scăderea concentrației lui în țesuturi, mai ales în păr și în urină, de reducerea sporului de greutate și instituirea unei balanțe negative de azot. [67]

Carența în crom este maximă la gravide, la diabeticii tratați cu insulină ca urmare a creșterii eliminării sale urinare, la copii cu regim proteino- caloric redus, la persoanele în etate și la persoane supuse timp îndelungat unui anumit regim alimentar.

La animalele de experiență, o primă consecință a carenței ușoare a cromului este însoțită de o creștere defectuoasă, de tulburări în metabolismul glucozei, proteinelor și lipidelor și de apariția unor leziuni ale corneei. La șobolani și șoareci cu deficit mai însemnat, se observă o hiperglicemie à jeun, glicozurie și o întîrziere ușoară a creșterii, manifestări care pot fi explicate prin activarea insulinei de către crom. [Incidența maladiilor coronariene și conținutul în crom al apelor potabile (vezi cap. 8)].

a. *Metabolismul glucozei.* Carența alimentară în Cr este însoțită de o scădere semnificativă a toleranței organismului pentru glucoză, a cărei viteză de eliminare din circuitul sanguin este redusă la jumătate din cea normală. Administrarea la șobolani a 20—50 μg Cr(III)/100 g greutate corporală normalizează fenomenul.

Cercetări efectuate asupra drojdiei de bere au dus la izolarea unei fracțiuni mult mai active decît aceea a Cr(III) în vitro, privitoare la

toleranța glucozei (factor de toleranță la glucoză; GTF = glucose tolerance factor) și a sugerat existența în GTF din drojdia de bere a Cr(III) complexat într-o formă neindentificată, analogă factorului 3 al seleniului (12).

Cercetări polarografice, privind interacțiunea crom-insulină-mitocondrii, au dus la emiterea ipotezei că Cr(III) acționează ca un cofactor cu insulina la nivel celular, formînd un complex ternar (215). În ceea ce privește toleranța glucozei la om, datele sînt încă contradictorii. Toleranța redusă la glucoză a copiilor din unele zone ale Jordaniei a fost corelată cu conținutul sărac în crom al apei de băut. Deoarece Cr corectează numai acea parte a stării de toleranță redusă la glucoză legată de carența în crom și nu și alți factori care influențează metabolismul glucidelor; după Mertz, cromul nu este considerat agent hipoglicemiant, substituent al insulinei și nici un remediu al diabetului (215).

b. *Metabolismul lipidelor și protidelor.* Cercetări experimentale pe șobolani masculi și femele cărora li s-au administrat în apa de băut cîte 1 μg Cr/ml, respectiv 5 μg Cr/ml sau au fost hrăniți cu zahăr brut, cu conținut ridicat în Cr, sau cu zahăr rafinat cu conținut redus în crom, sau cu crom, (III) (286) au prezentat o scădere semnificativă a colesterolului seric. O scădere semnificativă a colesterolului seric a fost relatată și de către Schroeder la cîțiva pacienți spitalizați, care au primit timp de 5 luni cîte 2 mg crom, în timp ce alții, cu un tratament identic, nu au reacționat (286). Aorta șobolanilor decedați în mod natural, hrăniți cu crom prezintă o incidență semnificativ mai scăzută, cu 2%, a plăcilor spontane, comparativ cu 19% la cei a căror alimentație a fost deficitară în crom; de altfel este cunoscută incidența mare a leziunilor vasculare la diabetici (328).

În sinteza proteinelor Cr(III) acționează ca un cofactor al insulinei. Astfel carența în crom și proteine a alimentației șobolanilor este însoțită de capacitatea lor redusă de a încorpora unii aminoacizi în proteine ca: glicina, serina, metionina, acidul α-aminoizobutiric. O încorporare mai îmbunătățită a acestora a fost obținută cu insulină; proporția lor a crescut semnificativ prin suplimentare cu Cr(III).

În vivo, insulina stimulează transportul celular al acelorași aminoacizi, într-un grad mai mare la șobolanii hrăniți cu o alimentație săracă în proteine dar care a fost suplimentată cu Cr(III), comparativ cu martorii a căror hrană a fost deficientă în crom.

3.10.4. Influența cromului asupra creșterii și longevității

Schroeder și colab. (287) au arătat că șoarecii și șobolanii hrăniți cu secară, lapte smîntînit și ulei de porumb, cu un conținut de 0,1 ppm Cr, cărora li s-a adăugat vitamine, Zn, Cu, Mn, Co și Mo în apa de băut

și 2 sau 5 ppm Cr(III) tot în apa de băut au prezentat o creștere mai mare și au avut o vîrstă medie cu 91 zile mai lungă comparativ cu cei a căror apă de băut nu a conținut Cr(III). La șoareci sau șobolani-femele nu s-a observat nici o diferență, cromul concentrîndu-se mult în foetus (287).

3.10.5. Surse de crom și toxicitate

Factorii care influențează circuitul hranei din sol prin plante și animale sînt la om puțin cunoscuți. În țesuturile vegetale concentrația cromului variază între 0,01—1,0 ppm. Cromul este concentrat în boabele de cereale; așa de exemplu grîul conține 1,7 ppm Cr comparativ cu 0,23 ppm făină integrală și 0,14 ppm făină albă (26). ceea ce reprezintă o pierdere în crom de 87% respectiv 92%. De asemenea, zahărul brut sau neprelucrat are un conținut ridicat în crom, comparativ cu cel rafinat (286).

Conținutul cromului în alimentația omului este influențat de proporția în glucide. După Schroeder, o dietă zilnică de spital ar furniza ~ 80 μg Cr/individ, iar la diabetici și bătrîni 50 μg Cr, valori mult scăzute comparativ cu cele relatate de Tripton pentru adulți, 330 și 400 μg Cr/zi (326 a).

Apa de băut constituie o sursă importantă de crom, al cărui conținut variază deosebit de mult chiar și în interiorul unor țări cu o suprafață restrînsă.

Sursele de crom amintite, se referă la conținutul în crom total și nu la cel activ biologic, legat sub formă complexă, încă necunoscută, singurul asimilat de animale; dependent într-o măsură mare de surse alimentare de crom asimilabile, ca GTF din drojdia de bere, sau alte forme similare.

Ținînd seama de pierderile de 5—10 μg Cr/zi prin urină, și de absorbția sa redusă, sub formă de Cr(III), aportul alimentar necesar variază între 200—500 μg în funcție de natura sa chimică, fiind mai crescut la femeile gravide, la persoanele cu toleranță la glucoză alterată și la diabetici. În S.U.A. aportul în crom este cuprins între 5 μg/zi pînă la peste 100 μg/zi (363).

Deoarece cantități însemnate de crom alimentar sînt pierdute prin volatilizare în cursul operațiilor de uscare și mineralizare, eșantioanele de analizat trebuie preparate la temperaturi joase (201).

Ținînd seama de nevoile organismelor în crom, există o largă barieră de siguranță între cantitățile obișnuite ingerate și cele care pot provoca intoxicare. DL_{50} a Cr(III) administrat i.v. este de ~ 1 mg/100 g corp (214). Cr(IV) are o toxicitate superioară, expunerea cronică la cromați fiind corelată cu incidența crescută a cancerului pulmonar, iar adminis-

trarea orală în exces (50 ppm), este asociată cu depresiunea creșterii și cu tulburări în activitatea ficatului și rinichilor la animale de experiență.

Exceptînd cancerul pulmonar, cromul produce efecte alergice ale pielii (eczeme, efecte caustice și iritative, perforarea septului nazal), precum și tulburări respiratorii de tip obstructiv (188 b).

BIBLIOGRAFIE

12, 37, 63, 69, 82, 109, 114, 138, 139, 166, 188 b, 201, 213, 214, 215, 227, 241, 284, 286, 287, 324, 326, 328, 336, 339, 342 a, 343, 363, 364, 365, 366, 367.

3.11. Vanadiul (V)

3.11.1. Generalități

Metal tranzițional situat în grupa a V-a, perioada a 4-a, cu configurație electronică $3d^3\ 4s^2$ și cu aplicații largi, mai ales în inobilarea oțelurilor speciale, vanadiul este un element esențial pentru specii de alge verzi, unele plante superioare și organisme animale inferioare, pentru nutriția puilor și chiar pentru organisme superioare (328).

Organismul unor Tunicate din familia Ascidiaceae, ca Ascidia aspere, Ascidia nigra conțin cantități mari de vanadiu (III) și (IV) în echilibru, mai ales în sînge 1,4%, sub formă de h e m o v a n a d i n ă, o proteină cu vanadiu. Concentrații mari peste 150 ppm vanadiu se găsesc în organismul unei moluște, iar în scaunele de broască țestoasă, 100 ppm.

Vanadiul poate înlocui parțial molibdenul în procesul complex de fixare directă a azotului de către azobacterii, stimulează germinația și creșterea plantelor, intervine în procese biologice redox, în biosinteza colesterolului și participă la calcifierea oaselor și a dinților.

3.11.2. Distribuție și metabolism

Conținutul vanadiului în organismul uman este mult controversat. Tripton și Cook (326) raportează concentrații medii de ordinul a 0,02—0,03 ppm, substanță uscată, în ficatul, splina și prostata adultului și o concentrație de ordinul a 0,6 ppm în plămîn. Sîngele total ar conține 1—2 μg V/100 ml, concentrat în ser. După Hamilton valorile existente în țesuturile omului adult ar fi: mușchi 0,01 ± 0,003; ficat 0,04 ± 0,04 ± ± 0,01; testicule 0,20 ± 0,08; noduli limfatici 0,40 ± 0,2; creier 0,03 ± 0,008; plămîni 0,10 ± 0,02 (123 a), emailul dentar uman conține aproximativ 0,1 μg/g (328).

Sîngele ar conține sub 1 μg V/100 ml, sau cantități mai mari, Așa de exemplu, conținutul în sînge la bolnavii de ischemie cardiacă, imediat

după infarct este de 4,6 μg/100 ml, iar după 70 zile scade la 1,96 ± 0,5 μg/100 ml (328).

Concentrația vanadiului în fructe și zarzavaturi este foarte variabilă chiar în cadrul speciilor de același fel. Trifoiul roșu conține 0,03—0,16 ppm, secara 0,03—0,11 ppm, boabele de soia, porumb, măsline, semințe de in și ulei de alune peste 43 ppm ; cantități inferioare se găsesc în uleiul de ricin, ficatul de pește, unt, untură.

Estimarea necesarului de vanadiu care trebuie îngerat zilnic prin hrană este dificil de făcut : 1—2 mg V/zi par a satisface necesitățile organismului (287).

În organismul uman vanadiul este slab absorbit : 0,1—1 % la nivel intestinal după administrarea a 100 mg oxitartrato-vanadat de amoniu (11) ; 60 % din vanadiu absorbit a fost eliminat prin urină în primele 24 de ore, restul fiind reținut în ficat și oase.

În ceea ce privește distribuția tisulară, retenția și excreția ^{48}V, administrat i.v. la șoareci, șobolani și pui, cele mai mari cantități sînt reținute în oase, dinți și rinichi. Ficatul, rinichii, splina și testiculele acumulează ^{48}V, după patru ore de la injectare, pe care l-a reținut într-o cantitate mai mare și peste 96 ore. Radioactivitatea fracției supernatantă subcelulară scade de la 57 % la 11 % și crește de la 14 la 40 % acea a fracției mitocondriale și nucleare, ceea ce explică retenția însemnată a ^{48}V în ficat (138).

Vanadiul sub formă de vanadat VO_4^{3-}, interacționează cu cromul, sub formă de cromat, CrO_4^{2-} (19).

3.11.3. Acțiune farmacologică, toxicitate

Date experimentale au arătat că un conținut deficitar în vanadiu al dietei afectează creșterea, reproducția și metabolismul lipidic la pui și șobolani (290, 328). Astfel un conținut alimentar sub 10 ppb V, este însoțită la pui de o micșorare a creșterii penelor din aripi și coadă (193) iar la un conținut de 30—35 ppb V, creșterea întregului organism este afectată. Suplimentarea hranei cu 3 ppm V ameliorează semnificativ creșterea puilor (328). În cazul șobolanilor adăugarea a 0,5 ppm V, la diete cu conținut sub 100 ppb V au dus la stimularea creșterii (328). Se pare că, chiar rații cu un conținut de 250—500 ppb V sub formă de vanadat de sodiu ar fi suficiente pentru stimularea creșterii (290).

a. *Reproducerea.* Diete sub 10 ppb V administrate la șobolani timp de mai multe generații sînt însoțite de o alterare însemnată a funcțiilor reproductive și o creștere a mortalității mai slabă la generația a treia și mai accentuată la a patra. Nu s-au observat diferențe semnificative

în concentrația colesterolului, lipidelor și proteinelor totale și a fosforului în organele primelor trei generații (137). Mecanismul de acțiune al vanadiului asupra funcțiilor reproductive este necunoscut (328). Un conținut sub 100 ppb V în hrana șobolanilor este însoțită de o creștere a fierului în sînge și oase ; o creștere analogă a hematocritului a fost observată și la diete de 30—35 ppb V la pui (328, 233).

b. *Sinteza colesterolului.* Vanadiul, în exces, inhibă sinteza colesterolului la treapta de acid mevalonic, scade concentrația fosfolipidelor plasmatice, a colesterolului și a trigliceridelor (137). La pacienții umani în vîrstă, cît și la cei suferinzi de hipercolesterolemie sau ischemie, vanadiul nu a scăzut concentrația colesterolului (287), cu toate că o astfel de scădere poate fi demonstrată în vitro, dar nu și în vivo, la șobolanii mai în vîrstă.

Vanadiul inhibă sinteza colesterolului din acetat și din acidul mevalonic dar nu și din squalen (82) ; el inhibă conversia farnesilpirofosfatului la squalen, ceea ce indică că procesul de inhibiție al vanadiului are loc la nivelul sistemului de enzime microsomale ale squalen sintetazei. Efectul stimulator al vanadiului asupra acetoacetil—CoA—deacilaza în mitocondriile de ficat ale șobolanilor este legat de vîrstă, ceea ce înseamnă că vanadiul exercită, probabil, un efect asupra permeabilității membranei mitocondriale.

Manganul (II) anulează efectul stimulator al vanadiului asupra oxidării fosfolipidelor hepatice și acțiunea sa depresivă asupra sintezei colesterolului.

c. *Cariile dentare.* Ținînd seama de analogia electronică completă a vanadiului (V) cu aceea a fosforului (V), el poate substitui fosforul în apatită, componentă chimică de bază în structura dintelui. Cu toate că administrarea per os, subcutanat, intraperitonial sau i.m. a unei soluții de vanadat de sodiu sau V_2O_5 marcat sau nu la șoareci, șobolani, cobai, cîini, au indicat implicarea vanadiului în procesul de mineralizare a dinților și oaselor și reducerea incidenței la carii, totuși rezultatele divergente obținute de alți autori (328) invită la o nouă evaluare critică a cercetărilor în acest domeniu.

3.11.4. Toxicitate

Vanadiul este relativ toxic. Concentrații superioare produc o scădere semnificativă a creșterii.

EDTA-ul previne toxicitatea vanadiului prin inhibarea absorbției gastrointestinale, de asemenea sărurile Cr (III) micșorează toxicitatea vanadiului (290).

La om, doze de 4,5 mg V/zi nu sînt toxice (287), mecanismul toxicității fiind puțin studiat. Se pare că el reduce conținutul compușilor cu sulf, al unor coenzime ca : coenzima A, coenzima Q și stimulează activitatea MAO.

BIBLIOGRAFIE

82, 123 a, 137, 138, 193, 233, 235, 287, 290, 326, 328, 363, 364, 365, 366, 367.

3.1.2. Staniul (Sn)

3.12.1. Generalități

Metal reprezentativ așezat în grupa a IV-a, perioada 6, cu configurația electronică exterioară $5s^2\ 5p^2$, staniul a fost cunoscut din cele dintîi timpuri ale civilizației omenești și utilizat în aliaj cu cuprul, bronzul, încă din epoca preistorică.

Schwartz și colab. (293) au arătat că staniul este necesar creșterii normale a mamiferelor; în absența a 1—2 ppm staniu în hrana lor, creșterea șobolanilor este de numai cu 2/3 din viteza normală.

În țesuturile umane staniul a fost pus în evidență în: mușchi 0,07 ± ± 0,01, rinichi 0,2 ± 0,04, creier 0,3 ± 0,04, testicule 0,3 ± 0,1, ovare 0,32 ± 0,19, ficat 0,4 ± 0,08, plămîni 0,8 ± 0,2 (161), noduli limfatici 1,5 ± 0,6, oase 3,7—4,1, sînge 0,009 μg Sn/g țesut /10/ ; în emailul dentar 0,03 la 7,1 μg/g greutate uscată, cu o medie de 0,53 ± 0,4 (123 a). Concentrația lor variază mult cu vîrsta și cu repartizarea geografică.

Sursele și cantitățile de staniu ingerate în hrană sînt puțin studiate, iar datele existente contradictorii. După Schroeder (287) o dietă cu 2 400 Kcal compusă, mai ales, din carne proaspătă, cereale și vegetale, cu un conținut uzual sub 1 ppm Sn, poate furniza 1 mg Sn/zi. Cantități însemnate de staniu pot fi acumulate în alimentele conservate în cutii de tablă cositorită și mai ales în cea nelăcuită.

Date privitoare la distribuția staniului în plante sînt destul de reduse și lacunare. Lichenii par a concentra Sn în concentrații de 4,7—7 ppm, pășunile din Scoția conțin 0,3—0,4 ppm Sn în produs uscat.

Absorbția Sn este redusă iar eliminarea lui se face mai ales prin fecale, în cantități apropiate cu cele ingerate (287) ; prin urină se elimină cantități inferioare de 8—16 μg/zi sau chiar de 23,4 μg/zi.

Compușii staniului, de obicei covalenți și liposolubili, stimulează creșterea ; Sn pare a fi implicat în transcrierea și traducerea ADN/ARN și în sinteza de proteine ;

Toxicitatea Sn ingerat este redusă din cauza absorbției, și retenției slabe în țesuturi.

În doze producătoare de toxicitate subacută (250—5 300 mg Sn/Kg dietă, micșorează creșterea șobolanilor, eficiența hranei și nivelul hemoglobinei în cazul în care Fe și Cu din diete este scăzut (112).

Compușii organici ai Sn (alchil, tetraalchil etc.) prezintă toxicitate ridicată (207).

BIBLIOGRAFIE

112, 123a, 161, 207, 287, 293, 328, 343, 363, 364.

3.13. Nichelul (Ni)

3.13.1. Generalități

Nichelul, element tranzițional de tip *d*, formează, alături de fier și cobalt, prima triadă a grupei VIII b; are configurație electronică exterioară $3d^8 4s^2$ și este destul de răspîndit în sol și în plante, ceea ce explică prezența lui normală în țesuturile și lichidele organismului animal.

Un adult, cu regim alimentar mixt, ingerează zilnic 0,3—0,5 mg Ni; regimurile alimentare vegetariene au un conținut în nichel superior celor nevegetariene. Dietele alimentare bogate în grăsimi și sărace în produse vegetale conțin 0,003—0,01 mg Ni/zi, în timp ce o dietă cu aceeași valoare calorică și proteine, care conține și vegetale, dar săracă în grăsimi, conține 0,7—0,9 mg Ni/zi. Fructele, semințele și tuberculii conțin 0,15—0,35 ppm Ni, ceaiul 7,6, hrisca roșie, 6,4, heringii 6,8, stridiile 6,0 ppm (substanță uscată) (287, 328).

3.13.2. Metabolism

Nichelul alimentar este absorbit într-o proporție redusă, care variază între 1—10%. Cu ajutorul ^{63}Ni s-a arătat distribuția acestuia în concentrații foarte mici, dependente de volumul sanguin al organelor și țesuturilor. După Koch și colab. (166), conținutul Ni în ficat este de 0,12,ppm, al inimii, al mușchilor 0,4, al intestinului subțire 2, vezică 0,5 ppm (substanță uscată).

Plasma ar conține în medie 0,02—0,04 sau chiar 0,06 μg Ni/g sînge (328), iar hematiile în medie 0,053 μg Ni/g; valori mult crescute 0,5—2 μg/g au fost semnalate în cazul pacienților cu infarct miocardic (328, 374, 363). Nichelul seric se găsește sub o formă ultrafiltrabilă, o formă legată de albumină și alta sub forma unei Ni-metaloproteină. Laptele de vaci conține 0,03, iar colostrul 0,10 ppm Ni (164, 328).

Eliminarea nichelului se face în cea mai mare parte prin fecale, iar cantități mici prin urină și transpirație. Așa de exemplu cîinii excretă 90% din nichelul ingerat în fecale și 10% în urină fără o retenție semnificativă în organism. Studii de echilibru al Ni la bărbați care au ingerat 289 ± 23 μg Ni/zi au indicat o eliminare medie prin fecale de 258 ± 23 μg/zi.

Cercetări cu ^{63}Ni injectat la șobolani, șoareci și iepuri au arătat în schimb că nichelul este eliminat rapid prin urină și în cantități mai mici în fecale provenit din bilă, care conține Ni (240). În cazul șobolanilor și iepurilor, ^{63}Ni este îndepărtat rapid din plasmă și ser în primele 48 ore de la injectare, după care viteza de eliminare se reduce după 3—8 zile cu 68—78% din cantitatea eliminată în urină în cursul primei zile.

3.13.3. Carență și acțiune farmacologică

Nichelul este un element esențial, deficiența sa alimentară fiind însoțit de manifestări patologice la pui, șobolani și porci. Astfel Nielson (239) a pus în evidență la puii hrăniți cu o dietă săracă în nichel, sub 40 ppb Ni, comparativ cu martorii a căror hrană a fost suplimentată cu 3—5 ppm Ni, o alterare a pigmentării pielii de pe pulpă, cu micșorarea pigmenților lipocromi galbeni și a hematocriților, însoțită de apariție de dermatite și o creștere în grosime a picioarelor și a gambelor cu partea posterioară ușor tumefiată, ficat mai puțin friabil și o acumulare a ^{63}Ni în ficat, oase și aortă. Modificări ultrastructurale apar la nivelul ficatului, cu anomalii biochimice privind organizarea reticulului endoplasmatic rugos, micșorarea capacității oxidative a fosforului lipidic în ficat și a colesterolului plasmatic,

La șobolani care în perioada vieții intrauterine au primit dieta cu conținut redus în nichel, 2—15 ppb, puii născuți, ca și adulții au prezentat mai ales la cea de a doua generație deficiențe în creștere și reproducere, și o frecvență crescută a morții intrauterine și perinatale (235, 232). O situație analogă a fost observată de către Anke și cola. (9) în cazul porcilor, cu o apariție de hipercheratoză la 30—50% din animale și scăderea conținutului zincului în ficat, păr și coaste la administrarea unor diete cu conținut redus în nichel.

O inhibiție a creșterii de 16%, respectiv 26% au fost observate la generația întîia, respectiv a doua a șobolanilor la o alimentație deficientă în nichel, ea fiind însoțită de o reducere a depozitării fierului în ficat, splină și rinichi în proporție de 87, respectiv 77 și 46%.

La administrarea a 50 ppm Fe în dieta șobolanilor deficienți în nichel a fost însoțită de apariția, după 30 zile a unei anemii grave (eritrocite 36%, hematocrit 37%, hemoglobină 44%,) și micșorarea activității malat dehidrogenazei (MDH) și a glucozo 6-fosfat dehidrogenazei (G-6-PDH), (288).

Nichelul favorizează activitatea ARN-polimerazei nucleare hepatice și a protein ARN-azei totale active și influențează metabolismul și structura membranelor. De altfel nichelul se găsește în concentrații semnificative în ADN și ARN, contribuind la creșterea stabilității lor față de denaturarea termică (232).

Se pare că nichelul ar avea și un rol, alături de alte metale, în pigmentarea unor specii de animale (pești, insecte) datorită afinității lui ridicate față de melamină și precursorii ei, proprietate transmisă genetic.

O alimentație normală furnizează organismului necesarul în nichel, exceptînd cazurile în care consumul în grăsimi, glucide rafinate și produse lactate este deosebit de ridicat sau a indivizilor cu afecțiuni care împiedică absorbția și facilitează excreția sa exagerată.

3.13.4. Toxicitate

Deși contaminarea cu nichel se pare că nu prezintă un pericol serios pentru sănătatea publică, totuși el este implicat în incidența afecțiunilor neoplazice ale căilor respiratorii, a cancerului pulmonar produs de fumul de tutun, a carcinoamelor interne (14) și a dermatitelor muncitorilor din rafinăriile de petrol, exceptînd valorile crescute găsite la bolnavii de infarct miocardic și valori scăzute în infecții acute și în uremie (75).

Toxicitatea Ni administrat per os a fost stabilită pe șobolani, șoareci, maimuțe și pui, afectînd activitatea unor parametrii biochimici ca citocromoxidaza și izocitric-dehidrogenaza în ficat, malic dehidrogenaza în rinichi, citocromoxidaza și malicdehidrogenaza din inima animalelor hrănite cu nichel. Sărurile solubile de nichel în regim alimentar de 700 ppm Ni sau mai mult, afectează atît consumul de alimente cît și retenția azotului la pui.

BIBLIOGRAFIE

9, 14, 75, 164, 166, 232, 234, 235, 239, 240, 287, 288, 328 343, 363, 364, 374.

3.14. Seleniul (Se)

3.14.1. Generalități

Nemetal situat în grupa VI-a a sistemului periodic, cu configurație electronică exterioară $4s^2\ 4p^4$, analoagă sulfului pe care-l însoțește în sulfuri, seleniul este un element esențial organismelor vii. Concentrația seleniului în țesuturile animale reflectă disponibilitatea sa în mediu înconjurător, produsele animale constituind sursele cele mai adecvate pentru om. Seleniul este distribuit în toate celulele organismului în concentrații foarte mici, dependente de țesuturi și de aportul alimentar. Concentrații ridicate se găsesc în mușchi, aproximativ 1/3 din totali-

tatea lui, mai ales în mușchiul cardiac, în rinichi, pancreas și ficat, iar cele mai scăzute în țesutul adipos, oase și sînge. În sîngele uman concentrația în seleniu, dependentă de mediul geografic, variază între 0,10—0,34 μg/ml, cu o medie de 0,21 μg/ml; nivele medii mult scăzute de aproximativ 0,08 μg/ml se găsesc la copii bolnavi de kucshiorkor. Plasma este mai săracă în seleniu 0,10—0,15 μg/ml, comparativ cu hematiile 0,23—0,36 μg/ml.

În alimente concentrația seleniului este dependentă de conținutul său în hrană, respectiv în sol. Astfel în laptele de vacă variază între 0,02 μg/ml în regiuni sărace în Se, pînă la 0,05 μg/ml, în regiuni cu conținut ridicat; conținutul în Se al laptelui crește la administrarea per os sau s.c. de selenit de sodiu. Laptele de mamă conține 0,013 — 0,052 ppm Se, cu o medie de 0,021 ppm. Ouăle de găină conțin 10—12 μg, cu o concentrație ridicată în gălbenuș 6,3 : 1 comparativ cu albușul. Ingerarea de doze toxice de Se duce la o creștere mai mare a acestuia în albuș comparativ cu gălbenușul. Administrat ca selenometionină ^{75}Se, este încorporat mai ales în proteinele laptelui în special în cazeină.

3.14.2. Metabolism

Absorbția Se are loc mai ales la nivelul duodenului și a jejunului mijlociu și este influențată de specia animală, forma, cantitatea ingerată cît și de prezența altor elemente, în special a arsenului. La animalele monogastrice absorbția intestinală a seleniului este superioară rumegătoarelor. În stări de carență absorbția intestinală predomină.

Absorbit Se trece în plasmă în proporții de 90—98%, asociat cu proteinele plasmatice și este distribuit apoi în toate țesuturile, inclusiv în oase, păr, eritrocite. Locul inițial de încorpoare al seleniului de proteine l-ar constitui microsomii. Majoritatea ^{75}Se se găsește în gamaglobuline și numai cantități mici în albumină. Legarea seleniului de proteinele plasmatice, indiferent de forma și calea de administrare, constituie una din particularitățile metabolismului său. Seleniul înlocuiește sulful în cisteină și metionină și este încorpotrat ușor în mioglobină, citrocrom C, enzimele mușchilor, miosină, aldolază și în nucleoproteine. Astfel miosina ar conține 25,9, aldolaza 12,9, citocromii 0,8 μg/g seleniu.

Indiferent de forma de administrare toți compușii seleniului sînt metabolizați într-o formă activă. Compușii anorganici sînt transformați în compuși organici sub influența unor enzime (seleno-diglutationul, sulf-adenosilmetionina) și încorporați în proteine.

Compușii finali de reducere, dimetilseleniu $(CH_3)_2Se$ și trimetilseleneloniu $(CH_3)_3Se^+$ sînt eliminați din organism pe cale respiratorie, fiind volatile iar trimetilseleneloniu prin urină.

Încorporarea și eliberarea seleniului din proteine nu pare a fi legată de sinteza și catabolismul acestora ; numai o mică parte din seleniu este incorporat propriu-zis în proteine în cursul sintezei propriu-zise a acestora, cea mai mare parte a seleniului fiind legat de trisulfură, sulful și seleniul putînd utiliza aceleași căi metabolice.

Seleniul tisular este în cea mai mare parte labil, din care cauză eliminarea lui începe la 5 minute după administrarea de ^{75}Se pe cale orală la pui, fiind maximă după 24 ore, iar la bovine administrat subcutanat, eliminarea prin lapte este maximă după 48 ore. Eliminarea seleniului se face preponderent prin fecale la animalele poligastrice, prin urină la cele monogastrice sau chiar pulmonar, în concentrații dependente de nivelul, forma ingerată, natura restului alimentar și specia animală. O creștere a concentrațiilor de proteine și metionină în regimul alimentar, ca și administrarea injectabilă de As, Hg, Tl, Cd duce la eliminarea sporită, pe cale pulmonară, a ^{75}Se injectat.

La rumegătoare excreția prin fecale este superioară celei urinare, la oi și la animalele nerumegătoare excreția urinară reprezintă calea de predilecție a eliminării Se injectat. Produsul major al excreției seleniului prin urină o formează, la șobolani și probabil și la alte specii animale, $(CH_3)_3Se^+$, compus final de metabolizare a Se(VI), Se(IV), selenometioninei, selenocistinei, metilselenocisteinei și a compușilor din grîul selenifer. Trimetilselenoniul reprezintă 20—50% din seleniu urinar, eliminarea lui fiind sub controlul androgenilor alături de alți compuși metabolici neidentificați, reprezentînd 11—28% din seleniu urinar.

Eliminarea seleniului prin fecale are loc mai ales sub forma de seleniu elementar sau de seleniuri, insolubile, fără activitate biologică, eliminare, dependentă de forma seleniului ingerat.

Metabolismul seleniului este influențat apreciabil de prezența anionului sulfat. Așa de exemplu administrarea parenterală sau în alimentație a sulfatului de sodiu duce la creșterea simțitoare a eliminării urinare a seleniului și la o diminuare a activității selenitului în prevenirea bolii mușchiului alb (WMD) la miei și viței. Interferența sulfului în metabolismul seleniului este dependentă în mare măsură de natura chimică a compușilor seleniului și sulfului. Așa de exemplu, influența sulfatului de sodiu asupra compușilor organici ai seleniului este inferioară compușilor anorganici, iar în cadrul acestora mai mare asupra seleniatului comparativ cu selenitul sau cerealele seleniferoase.

Seleniul este transmisibil prin placentă la fetus. Administrarea de selenit de sodiu, de selenometionină sau selenocistină marcate cu ^{75}Se au arătat că seleniu anorganic traversează mai greu placenta comparativ cu formele organice. Distribuția Se în organismul fetal este asemănătoare cu cea din organismul matern, cu o concentrație maximă în rinichi.

3.14.3. Acțiune farmacologică

Seleniu, element esențial organismelor vii, participă la numeroase procese biologice legate de: menținerea integrității musculare și eritrocitare, de activitatea ADN—ARN, a unor enzime esențiale, micșorarea toxicității Hg^{2+}, CH_3Hg^+, Cd^{2+}, Ag^+, As^{3+}, Cu^{2+}, Pb^{2+}, Te, creșterea și fertilitatea animalelor, menținerea activității și mobilității spermatozoizilor, a funcției pancreatice, a integrității cheratinelor și evitarea hipercheratozelor și a cataractelor, stimularea sintezei de anticorpi (imunoglobuline) și a biosintezei ubichinonelor (coenzima Q) la animale

Seleniul este un element esențial creșterii și fertilității animalelor. El previne necrozele ficatului sau distrofia musculară la diferite animale. Moartea prin necroza ficatului la șobolani poate fi evitată printr-un regim care conține 0,1 ppm. seleniu; doze comparativ scăzute suprimă boala mușchiului alb, observată la vitele și oile care pasc pe terenuri sărace în seleniu.

Seleniul este activ în diateza exudativă la pui, producînd o mai bună creștere decît cea obținută la administrare de tocoferol sau alte substanțe asemănătoare, în hepatoza dietetică la porci și reduce incidența bolii periodontale la oi, caracterizată prin căderea molarilor permanenți și uneori a incisivilor, asociată cu hiperplazie gingivală, infecție alveolară și exostaza osului la partea adiacentă a mandibulei sau maxilarului.

Seleniu influențează fertilitatea animalelor. Astfel pierderile produse ale nașterii premature sau moartea vițeilor, sînt complet prevenite prin injectarea vacilor gestante, 50—60 zile înainte de fătare, cu un amestec de selenit de sodiu și vitamina E. Administrarea orală la oi a 5 mg Se sub formă de selenit de sodiu timp de 2—4 săptămîni înainte de fecundare și o doză similară timp de o lună înainte de fătare, duce la o creștere accentuată a fertilității și la o scădere în incidența bolii mușchiului alb (WMD).

Descendenții șobolanilor alimentați cu diete scăzute în Se, cresc mult mai înalt, nu se reproduc și sînt lipsiți de păr. Administrarea a 0,1 ppm selenit de sodiu duce la restabilirea creșterii părului, la o creștere și reproducere normală. După Wu și col. (352) șobolanii alimentați cu diete deficitare în Se, dezvoltă modificări degenerative în epididim, în asociere cu creșterea slăbită a testiculelor și a funcției, lor. Efecte analoage au fost observate și la berbecii alimentați cu o dietă purificată, foarte scăzută în Se, timp de 140 zile.

Sub formă de selenit de sodiu, 1 mg, asociat în capsule cu succinat de tocaferol (vitamina E), 68 UI, ameliorează semnele clinice ale artritei cronice la cîini și pisici, stabilizează membranele lizozomilor izolați din ficatul de șobolan și agregarea serum albuminei indusă termic.

Tot sub formă de selenit de sodiu sau compuși organici, seleniu, manifestă o acțiune antiinflamatoare în țesutul granulomului la șobolani, acțiune potențată de vitamină E, ceea ce presupune legarea sa de proteine într-un mod care împiedică inactivarea lor oxidativă.

În 1973 OMS-ul a inclus seleniu în cadrul celor cinci elemente (Zn, Cd, Ni, Mn și Cr) implicate în bolile cardiovasculare. Studii clinice utilizînd capsule conținînd 0,5 mg selinit de sodiu și 100 UI vitamină E, au indicat o reducere a incidenței durerilor în angina pectorală.

În ceea ce privește seleniul, cariile dentare și cancerul, menționăm următoarele: populațiile umane din regiuni selenifere prezintă o predispoziție ridicată la carii dentare, comparativ cu cele din regiuni neselenifere. Exceptînd creșterea susceptibilității la carii cu creșterea seleniului, acesta exercită și un efect de inhibiție al acțiunii fluorului asupra acestora.

Efectele produse de seleniu consumat în perioada de dezvoltare a dinților asupra susceptibilității la carii este explicat prin schimbările care au loc în componentele proteinelor smaltului. Se pare că Se este asociat cu proteina din matricea osului și un component mineral al acestuia.

Datele din literatură privitoare la proprietățile mutagene, teratogene și carcinogene ale seleniului la animale de laborator cît și acțiunea sa protectoare, în anumite doze, față de cancerul uman, sînt contradictorii.

Funcțiile seleniului în metabolismul celular nu sînt pe deplin elucidate. Seleniul are o capacitate însemnată de transfer de electroni și protoni și participă la controlul potențialului redox al celulelor. Labilitatea superioară a legăturilor S—Se, comparativ cu legăturile S—S, cît și tendința mare a selenooxizilor de a forma cu molecule de apă grupările $\geq Se(OH)_2$, precum și reducerea ușoară a Se(IV) la ionul seleniură, Se^{2-}, explică rolul major al transformărilor enzimatice în vivo, catalizate de seleniu. Deși poate acționa ca un antioxidant, ipoteze după care acțiunea sa metabolică este aceea a unui antioxidant nespecific care produce protecția contra peroxidării în țesuturi și membrane este insuficientă pentru a explica funcțiile lui metabolice și mutaționale.

După Green și col. (106 a) și alți autori, Se este implicat în biosinteza ubichinonei (coenzima Q) implicat în lanțul respirator, în timp ce participarea vitaminei E este încă controversată și neconfirmată. Seleniu poate acționa asupra transportului de hidrogen de-a lungul lanțului respirator și are un efect inhibitor asupra nicotinamid-adenin nucleotidului (NAD) și NAD-fosfatului (NADP). Seleniul intră în structura enzimei glutation-SH-peroxidaza.

Clarificarea relațiilor care ar putea avea loc între seleniu, vitamina E și coenzima Q în boli infecțioase, cancer, boli cardiovasculare și în periodontită, capacitatea seleniului și eventual a vitaminei E de a participa la sinteza ubichinonei, ar contribui la prevenirea sau tratamentul acestor afecțiuni.

După Scott (298) seleniu afectează absorbția și retenția vitaminei E și a trigliceridelor, el fiind necesar în procesele metabolice neprotejate de vitamina E, a cărui rol este și acela de a proteja urmele de seleniu în organismul animal.

Seleniul și vitamina E stimulează formarea de anticorpi la iepuri, primul intervenind în formarea proteinelor sanguine specifice. Specificitatea formării lor și prezența apreciabilă a seleniului în unele din ele, a fost demonstrată. Această proprietate a dus la propunerea suplimentării vaccinurilor cu seleniu, în scopul creșterii eficienții lor. Cercetări privitoare la apariția rapidă a seleniului în ADN și ARN, precum și asocierea lui cu ARN de transport, vor permite explicarea rolului său în sinteza și structura proteinelor.

3.1.4.4. Surse și necesități

Aportul nutritiv optim al seleniului, în funcție de specia animală și de vîrstă este necunoscut; el poate ajunge la 1—2 ppm pentru a contracara carcenogeneza, a stimula imunoglobulinele sau pentru o creștere maximă. Conținutul minim în seleniu necesar animalelor este dependent de forma îngerată și de aportul în vitamina E (α-tocoferol) al dietei. O concentrație de 0,1 ppm Se în dietă pare a fi suficientă pentru a satisface limita de siguranță; pentru a preveni distrofia musculară la animale ar fi suficiente cantități de 0,06 ppm Se. Necesarul în seleniu pare a fi crescut la o mărire a conținutului sulfaților în hrană, ca urmare a micșorării absorbției lui de către plante. Superfosfatul, ca îngrășământ, pare a nu influența notabil biologia seleniului în raport sol-plantă, în schimb azotatul de amoniu îi micșorează resorbția.

O dietă cu drojdia de Torula conținînd 0,056 ppm Se și 100 U.I. vitamina E este insuficientă pentru o creștere maximă a puilor de găină, fără o suplimentare de 0,04 ppm seleniu, sub formă de selenit de sodiu. La puii de curcă hrăniți cu o dietă de porumb, de soia, necesarul în seleniu este de ordinul a 0,18 ppm în prezența vitaminei E și pînă la 0,28 ppm, în absența ei. În diete purificate cu sau fără adaos de 10 ppm, vitamină E, necesarul în Se este de sub 0,01 ppm, respectiv 0,02 ppm și 0,05 ppm.

În funcție de biodisponibilitatea diferitelor forme chimice de administrare ale seleniului în necroza ficatului la șobolani, Schwartz (295) clasifică seleniu și compușii săi în trei grupe. Prima include sele-

niu elementar și unii compuși slab absorbiți, care sînt practic inactivi. A doua grupă cuprinde majoritatea compușilor anorganici precum și selenocistina și selenometionina, care în concentrații de cîteva micrograme la 100 g dietă asigură protecția necesară. Materialul vegetal utilizat în hrana animalelor se încadrează în cea mai mare parte, în această categorie.

A treia grupă de compuși ai seleniului cu cea mai ridicată biodisponibilitate o formează compușii organici. Astfel din hidrolizatul de rinichi pulverizat s-a izolat așa-zisul *Factor 3*, strîns legat de proteine, din care s-a separat α și β factorii 3. Doza în μg/100 g aliment necesară pentru a proteja 50% din șobolani de necroză hepatică, în condiții de carență, este de 0,7 μg în cazul factorului 3 și de 2,2 μg în cazul selenitului de sodiu.

Studiind capacitatea acizilor alifatici monoseleno- și diselenodicarboxilici de a preveni necroza dietetică a ficatului la șobolani, Schwartz și Fregda (295a) au arătat că acidul monoseleno-11, 11'-di-n-undecanoic și acidul 4,4'-di-n-valeric și amida diseleno-11,11'-di-n-undecanoică prezintă cea mai ridicată activitate. Potențialul lor a fost de 169, 138 și 180% față de acela al seleniului din selenitul de sodiu. În ambele serii ale acizilor mono- și diselenocarboxilici se observă un minimum de potențial la C_{-7} și unul maxim la C_{-10} și C_{-11} al lanțului alifatic. Ruperea lanțului sau introducerea a două grupări metil la același atom de carbon cu formarea unui carbon cuaternar este însoțită de eliminarea aproape completă a acțiunii biologice. În seria acizilor monoselenodicarboxilici, cei cu număr impar de atomi de carbon sînt mai activi decît cei cu număr par.

Conținutul alimentar în seleniu variază în limite largi în funcție de concentrația lui în solurile respective. Astfel în alimentele uscate, recoltate din soluri selenoferoase, conținutul în seleniu variază între 0,25—1,0 ppm pentru cereale, 0,15—1,27 ppm în lapte, 1,17—8 ppm în carne. (În zone sărace sau cu conținut normal în seleniu sînt citate diferențe de zece ori mai mari). Ficatul și rinichii conțin cantități superioare de Se comparativ cu mușchii a căror conținut normal este de 0,5—0,8 ppm; carnea, viscerele și oasele peștilor conțin 0,17—0,77 ppm Se, iar în făina integrală de pește complet, degresată pentru uz uman, 1,8 ppm.

În prelucrarea alimentelor fierberea exercită un efect negativ. Astfel o mare cantitate de seleniu existent în produse vegetale este eliminat prin fierbere; conținutul său în laptele praf degresat este dependent de metoda de uscare. Efectul fierberii asupra seleniului remanent în carne nu este cunoscut.

Conținutul în seleniu al furajelor animale variază cu specia vegetală și concentrația sa în solul din care a fost recoltată. În general con-

centrația în seleniu a păşunilor şi furajelor din zone în care nu apar boli cauzate de seleniu, este egal sau mai mare de 0,1 ppm iar în cele în care incidența lor este variabilă, sub 0,05 ppm sau chiar 0,02 ppm. Nivele scăzute de seleniu de 0,006—0,007 ppm se întîlnesc în cereale din regiuni deficiente în Se, comparativ cu valori de 10—100 ori superioare la boabele recoltate din soluri normale, neselenifere. În general s-a constatat că în regiunile şi țările în care accesul plantelor la Se este redus, mortalitatea prin boli cronice este superioară comparativ cu țările şi regiunile cu conținut ridicat în Se.

Apa, indiferent de zonele normale, deficiente în Se sau cele selenifere, nu constituie o sursă semnificativă de seleniu la om sau animale.

În teza de doctorat „Carențele în seleniu la viței, miei, purcei şi malaci", V. Salanțiu (275) a urmărit distribuția Se în solurile din Transilvania, Maramureş şi Crişana şi prezența bolii de carență la animalele amintite. Zonele studiate au fost grupate în funcție de conținutul în seleniu, în 4 categorii: categoria I sub 0,2 ppm, II cu conținut mediu 0,2—1ppm, III cu conținut ridicat 1—4 ppm şi IV cu conținut foarte ridicat de seleniu, peste 4 ppm. Apa rîurilor din zonele studiate nu depăşeşte 0,4 ppm Se, fiind influențată de gradul de poluare şi de tulburare după ploi; nisipurile şi nămolurile depuse de rîuri au un conținut ridicat de seleniu, 0,18—6 ppm, cele mai bogate fiind cele depuse la vărsarea torenților de munte.

Asigurarea suplimentelor cu seleniu la animale se face prin administrare pe cale orală sau injectabilă a unor săruri de seleniu ca: selenit, seleniat de sodiu, pilule cu seleniat de calciu, bariu sau chiar seleniu elementar asociat cu fier fin divizat. Creşterea conținutului în seleniu al păşunilor şi furajelor a fost experimentat şi prin tratarea solului cu diferiți compuşi ai seleniului, seleniți de sodiu, fier(II), bariu, sau chiar seleniu înglobat într-o masă de sticlă topită, utilizarea superfosfatului selenizat, stropirea ierburilor etc.

3.14.5. Toxicitate (selenoza)

Solurile cu un conținut total mai mare de 0,5 ppm seleniu sînt considerate de către Moxon (226 a) ca potențial periculoase pentru şeptel, deoarece vegetația crescută pe ele poate atinge un conținut de 4—5 ppm Se sau chiar mai înalt. În incidența selenozei la animalele ierbivore un rol important îl au plantele acumulatoare de seleniu cele din genul Astragalus, numite şi plante „indicatoare" sau „transformatoare" deoarece au proprietatea de a transforma formele neasimilabile de seleniu în forme asimilabile.

Intoxicația cronică cu seleniu este caracterizată prin apatie, lipsă de vitalitate, anemie, slăbire şi subțierea pielii, pierderea părului de

coamă și coadă, slăbirea copitelor, atrofia inimii și ciroza ficatului.

Intoxicația acută este însoțită de orbire, dureri abdominale, salivație, modificarea respirației, slăbirea copitelor, pierderea poftei de mîncare și un anumit grad de paralizie.

Toxicitatea seleniului la animale este dependentă de cantitatea și forma chimică a seleniului îngerat, durata și continuitatea îngerării și natura dietei utilizate. Un conținut minim de 3—4 ppm Se în dieta uscată duce la acumularea lui în țesuturi și la producerea intoxicației. Dietele bogate în proteine, mai ales caseina și făina de semințe de in mărește rezistența organismelor, iar agenții de chelatare măresc cantitatea de seleniu dializat în homogenatele de ficat ale șobolanilor alimentați cu diete de cazeină. Antioxidanții, metionina și vitamina E influențează toxicitatea seleniului.

Arsenul sub formă de arsenit sau arseniat de sodiu constituie cel mai eficient factor dietetic în reducerea toxicității Se; astfel 5 ppm As în apa de băut previne complet toate semnele de selenoză la șobolani.

Apariția cheratozelor în cadrul unei supramedicații cu compuși ai As(III), ca soluția Fowleri, ar putea fi explicată prin inactivarea enzimelor selenodependente necesare integrității cheratinei. De altfel interrelația As—Se este neelucidată.

Deși mecanismul intoxicațiilor cu seleniu nu este clarificat, el afectează unele organe celulare și sisteme enzimatice; astfel inhibă enzimele de dehidrogenare și al uricazei fără a modifica sistemul citocrom-indofenoloxidazic, catalază sau arginaza hepatică.

Prevenirea intoxicațiilor cu seleniu se face prin tratarea solului în condiții în care seleniu absorbit de către plante să se mențină la nivele netoxice, tratarea animalelor intoxicate sau modificarea hranei (dietei) lor prin includere de substanțe care produc în vivo un efect antagonist sau inhibitor asupra efectelor seleniului.

Astfel absorbția seleniului din soluri selenifere de către lucernă este simțitor redusă prin adăugare de sulfat de calciu sau clorură de bariu

Seleno-profilaxia cu compuși anorganici, implică administrarea lor, la animale înainte de fătare, în perioade dependente de specia animală. Seleniul micșorează toxicitatea unor metale grele, inclusiv a Hg^{2+}, CH_3Hg^+, Cd^{2+}, Ag^+, Cu^{2+}, Pb^{2+}, As(III). Astfel seleniul împiedică formarea leziunilor testiculare și a hipertensiunii produsă de Cd^{2+} la șobolani.

Interrelațiile complexe între seleniu, vitamina E, aminoacizi și excesul de grăsimi din rațiile alimentare, antioxidanți și acidul ascorbic sînt insuficient elucidate.

BIBLIOGRAFIE

26, 90, 94, 97, 106 a, 182, 183, 226 a, 229, 244, 245, 275, 294, 295, 295 a, 298, 365, 366, 367, 310, 319, 325, 328, 343, 363, 364, 374.

3.15. Fluorul (F)

3.15.1. Generalități

Element nemetalic cu cel mai accentuat caracter electronegativ situat în grupa a VII-a principală a sistemului periodic, fluorul are configurația electronică : $2s^2\ 2p^5$ și se găsește în scoarța terestră în proporție de 0,029%, fiind de 4 ori mai abundent decît cuprul. Minereurile cele mai importante sînt : *fluorina*, CaF_2, *apatita* $Ca_5[(PO_4)_3F]$ și *criolita*, $Na_3[AlF_6)]$. Apa de mare conține 0,8—1,4 ppm fluor, la fel cele mai multe ape potabile.

Uzinele de superfosfați, de aluminiu, metalurgice, întreprinderi de emailat, fumul cărbunilor pot constitui surse zonale importante de poluare cu fluor.

Fluorul este esențial în formarea emailului dentar, rezistent la carii ; în urme este necesar mineralizării normale a țesuturilor dure, poate avea un rol în reproducerea, creșterea și anemia la șobolani și poate inhiba și stimula, prin mecanisme încă puțin cunoscute, activitatea unor enzime.

3.15.2. Surse de fluor

Apa potabilă, alimentele, produsele dentare, praful în suspensie din aer și poluanții industriali constituie sursele principale de fluor pentru oameni.

a. *Apa*

În apă, cea mai importantă sursă de fluor pentru oameni și animale, fluorul se găsește sub formă de fluoruri dizolvate, sau în suspensie. Conținutul apelor de suprafață în fluoruri este redus (sub 1 ppm), în timp ce apele intermediare și subterane conțin cantități mai mari, care variază mult, în funcție de zone geografice, așa cum se poate observa din tabelul 14. În regiuni cu fluoroză endemică (India de Sud, Africa de Sud) apar concentrații de 20—50 ppm fluor. În țara noastră conținutul mediu al apelor potabile variază între 0,14—0,70 mg/l (13, 197).

Considerînd conținutul unei ape fluorate ca fiind 1 ppm, cantitatea de fluoruri ingerate pe zi variază între 0,39—0,56 mg/pentru copiii de la 1—3 ani și între 0,81—1,65 mg pentru cei de 10—12 ani. Aceste cantități variază cu condițiile climatice, mai ales cu temperatura. În zonele temperate, se recomandă un conținut de 1,0—1,2 ppm fluoruri în apele potabile.

Tabelul 14

Conținutul maxim în fluoruri în apele naturale ale unor țări (357)

Țara	Conținut ppm	Țara	Conținut ppm	Țara	Conținut ppm
Africa de Sud	53,0	Danemarca	3,3	Norvegia	2,7
Anglia	5,8	Etiopia	0,9	Noua-Zeelandă	0,9
Argentina	1,6	Finlanda	5,0	Polonia	1,1
Australia	13,5	Franța	7,0	Portugalia	22,8
Austria	0,8	India	6,4	Suedia	10,0
Canada	1,2	Iran	1,0	S.U.A.	16,0
Chile	1,5	Japonia	20,0	Spania	6,3
Cuba	0,4	Kenya	2 800,0	Tanzania	95,0
Coreea	10,0	Nigeria	6,2	U.R.S.S.	7,0

b. *Alimente*

Exceptînd apa, cantități mici de fluoruri sînt ingerate odată cu alimentele, așa de exemplu carnea conține 0,2—2,0 ppm, mărunțaiele de vită 2,3—10,1 ; peștii 5,8—26,9 ; crustaceele 0,7—2,0 ; ouăle 1,2 ; laptele 0,07—0,22 ; brînza 1,62 ; ceaiul 97,0 ; cafeaua 0,2—1,6 ; fructele 0,11—1,32 ; cerealele 0,1—0,7, cartofii necojiți 1—3,5 (substanță uscată) din care peste 75% în coaje, fasolea 0,20 mg/kg, porumbul 0,35 mg/kg.

3.15.3. Metabolismul fluorului

a. *Absorbție*. Fluorul este absorbit și metabolizat sub forma anionului fluorură, F^- și mult mai rar, sub formă de CaF^+ și MgF^+. Florurile solubile sînt rapid și complet absorbite în tractul gastro-intestinal. Așa de exemplu, utilizînd $Na^{18}F$ administrată per os la oameni, s-a observat o concentrație maximă în sînge după o oră, iar în urină 20—30%, după 3—4 ore.

Absorbția fluorurilor greu solubile se face mai lent suspendate în cantități mici în soluție, absorbția lor este mult superioară adăugării lor, sub formă solidă, în dietă.

Absorbția fluorurilor ingerate prin apă sau prin alimente este aceeași, exceptînd cazurile în care, regimul alimentar a fost bogat în săruri de calciu, magneziu sau de aluminiu, cu care ionul fluorură formează fluoruri greu sau insolubile. Rata de absorbție a fluorurilor administrate în lapte este mai lentă, comparativ cu administrarea lor în apă.

b. *Distribuție.* Absorbit, ionul fluorură ajunge în sînge și este repartizat în întregul organism. Concentrația fluorului în plasmă este superioară globulelor roșii și se menține constantă 0,14—0,19 ppm, printr-un mecanism homeostatic, chiar și în cazurile în care concentrația sa în apa potabilă variază între 0,15—0,25 ppm. La o concentrație de 5,4 ppm fluoruri în apă potabilă, mecanismul nu mai funcționează perfect și apare o creștere plasmatică medie de 0,26 ppm. În mod analog, la administrarea zilnică a 50—100 mg fluoruri în tratamentul osteopatiei metabolice, are loc o creștere temporară a fluorurilor plasmatice, care revin la nivelul existent înainte de tratament.

Concentrația fluorului în țesuturile moi este de ordinul 0,5—1 ppm, ceva mai ridicată în placentă, aortă și rinichi; ea se menține, la fel ca în plasmă, constant, printr-un mecanism homeostatic. Fluorul crește foarte puțin în fluoroza cronică și mai mult în cea acută.

Țesuturile moi ale animalelor noi-născute și ale sugarilor au un conținut în fluor inferior mamelor lor. Transferul placentar și mamar al fluorurilor este limitat, exceptînd alimentația cu doze foarte ridicate de fluoruri. Sîngele fetal și matern conține concentrații aproximativ similare de fluoruri.

Diete bogate în fluoruri la păsări duce la transferul lui însemnat în ouă, în special în gălbenuș.

Fluorul se acumulează în tiroidă fără a împiedica captarea iodului într-un regim alimentar. Raportul iod : fluor în apă și alimente, în zone gușigene din țara noastră este de 10 : 2.

Cea mai mare cantitate de fluor se găsește în țesuturile calcificate (oase, dinți) datorită afinității sale mari față de fosfatul de calciu. Aproape 50% din fluorurile ingerate sînt încorporate în țesuturile calcificate, fie printr-un proces de substituție a unor ioni sau grupe de ioni din hidroxiapatită cu ioni de fluorură, fără a-i modifica structura cristalină, fie prin înserarea lor în rețeaua cristalină în timpul creșterii cristalelor, procese care sînt maxime în perioada osificării și odontogenezei. Rata depozitării fluorului în oase scade cu creșterea vîrstei.

În reținerea fluorurilor de către dinți se disting trei faze : a) în timpul formării dinților, fixarea fluorurilor are loc uniform în toate țesuturile ; b) în faza de mineralizare în care reținerea este mai accentuată, în părțile participante la acest proces ; c) după încheierea procesului de formare și calcifiere a dinților, fixarea fluorurilor are loc practic, în zonele marginale, circumscrise emailului și dentinei.

Concentrația medie a fluorului în dentină este de 2—3 ori mai ridicată comparativ cu cea a emailului ; ea este maximă în apropierea camerii pulpare și scade pe măsură ce se apropie de joncțiunea amelo-dentinară.

În smalț, fluorurile sînt fixate mai ales la suprafață și scad exponențial spre interior. După erupția dinților, fluorurile ingerate continuă

să pătrundă în smalț unde sînt blocate în zona primilor 100—200 μ. Concentrația fluorurilor în dinți și oase, dependentă de dozele ingerate, crește cu vîrsta. De altfel, în perioada de intoxicație latentă cu fluor, organismul este protejat de două mecanisme fiziologice care acționează concomitent: creșterea excreției urinare și depunerea lui în țesuturile osoase.

c. *Eliminare.* Fluorurile sînt eliminate din organism prin urină, sudoare și fecale și numai ca urme prin lapte, salivă, păr, lacrimi.

Excreția fluorurilor în fecale reprezintă aproximativ 10% din cantitatea ingerată zilnic și poate ajunge și depăși chiar 30% în cazurile regimurilor alimentare care conțin fluoruri greu solubile.

Sudoarea poate contribui la stabilirea echilibrului concentrației fluorului în organism, în cazuri de ingerări de cantități crescute de fluoruri și de transpirație abundentă. Prin lapte și salivă se elimină zilnic cantități neglijabile de fluoruri.

Urina constituie calea normală de eliminare a fluorurilor, concentrația urinară este cel mai bun indice al consumului acestora.

Concentrația urinară în fluoruri a subiecților care au consumat cantități constante de fluoruri, egale de obicei cu cele existente în apa de băut (pînă la 8 ppm), este aproximativ egală cu cantitățile ingerate.

La subiecții expuși ocazional la concentrații ridicate în fluoruri, aproape jumătate din cantitățile suplimentare sînt fixate în schelet, surplusul este eliminat rapid prin urină, care constituie mecanismul de apărare al organismului în intoxicații cu fluoruri. Ingerarea unor doze foarte mari de fluoruri duce la moartea subiecților respectivi după 4 ore; în caz de supraviețuire, concentrația fluorurilor în organism scade rapid, atît ca urmare a depozitării lor în țesuturile osoase, cît și eliminării prin urină. Vindecarea bolnavului este asigurată de rapiditatea celor două procese conjugate.

3.15.4. Carența și funcțiile fluorului

Concentrația de 1 ppm fluoruri în apa potabilă nu exercită nici un efect nociv asupra metabolismului alimentelor, a activității hormonilor și a enzimelor.

a. *Influența fluorului asupra scheletului și formării oaselor.* Scheletul conține aproximativ 96% din fluorurile existente în organism. Ionul fluorură continuă să se depoziteze în structurile calcifiate și după ce ele au atins un stadiu staționar, spre deosebire de ceilalți componenți majori ai acestora: Ca^{2+}, Mg^{2+}, PO_4^{3-}, CO_3^{2-}, citrat, care ating o concentrație maximă, care rămîne nemodificată, chiar la administrarea lor în doze ridicate. Concentrația fluorului din oase crește rapid odată cu mărirea aportului în fluor prin apă sau alimente.

În același timp, gradul de reținere al fluorului crește cu vîrsta. Concentrația urinară în fluoruri atinge concentrația existentă în apă inițial (1 ppm), la copiii între 5—15 ani, abia după 3 ani, iar la adulți după o săptămînă. În mod analog, fluorurile ating rapid o stare de echilibru în scheletul adulților, în timp ce țesutul osos al copiilor continuă să absoarbă timp de 3 ani fluoruri înainte ca bilanțul fluorului să fie stabilizat.

Afinitatea mare a fluorului față de fosfatul de calciu explică rolul său important în formarea țesutului osos. Așa cum se știe, calcifierea oaselor constă dintr-o reacție de nucleație la care participă inițial colagenul ca materie organică, calciul și fosforul, componenți minerali în formarea hidroxiapatitei $Ca_{10}[(PO_4)_6(OH)_2]$ care constituie faza minerală a osului, orientată în sensul fibrelor colagenice. Ionul de fluorură, substituie parțial sau total ionul hidroxil din hidroxiapatită, formînd cristale mixte de hidroxi și fluoroapatită. Prezența ionului F^- ameliorează sensibil structura cristalină a apatitei osoase. În apatitele sintetizate de către organism se pare că ionii de sodiu, potasiu și citrat nu sînt localizați în interiorul rețelei; poziția ionilor Mg^{2+} este controversată, ionul carbonat poate înlocui, cel puțin parțial ionul fosfat în rețeaua apatitei, perturbînd structura ei. Ionul citrat pare a fi adsorbit la suprafața cristalului, modificîndu-i textura.

Întărirea scheletului cristalin al apatitei osoase de către ionii de fluorură se datorește fie unui efect direct exercitat asupra procesului de nucleație, care duce la formarea unor cristale mari de hidroxiapatită, fie deplasării ionilor carbonat sau citrat, care perturbă cristalizarea. De altfel creșterea fluorurilor este însoțită de o micșorare corespunzătoare a ionilor carbonat și citrat. Ori cum, fluorurile în cantități mici au un rol esențial în formarea cristalelor de apatită.

b. *Influența fluorului asupra dinților.* Rezistența dinților la caria dentară este strîns legată de structura lor intrinsecă, de compoziție de mediu bucal și de factori generali. Configurația suprafeței dentare, conținutul în fluor și alte microelemente al emailului, cît și permeabilitatea lui, influențează rezistența și dezvoltarea cariei dentare.

În același timp, saliva acționează asupra mediului bucal, mai ales prin: acțiunea sa tampon, concentrația ionilor de hidrogen, enzime salivare, anticorpi, substanțe ușor polimerizabile care contribuie la formarea plăcii dentare sau la modificarea compoziției ei. Absența bacteriilor și a glucidelor fermentescibile în cavitatea bucală împiedică formarea cariei. Prezența glucozei este deosebit de importantă nu numai prin ușurința de a fermenta acid dar și prin ușurința de a se polimeriza în glucon insolubil, care modifică compoziția plăcii dentare.

Factori genetici și nutriționali pre sau postnatali, funcțiile metabolice generale ale organismului, precum și factori externi legați de prezența oligo-elementelor în sol, apă, alimente, aciditatea sau alcalinitatea

solului, precum și condițiile socio-economice legate de alimentație și igienă, influențează apariția și dezvoltarea cariei dentare.

Concentrarea fluorurilor în țesuturile dentare are loc printr-un proces analog celui din oase ; el este influențat de vîrstă și de cantitatea fluorurilor ingerate.

Încă din 1942, Dean (356) a arătat că între incidența cariilor dentare la om și conținutul de fluoruri în apă potabilă există o relație lineară ; concentrația de 1 ppm fluor din apă este considerată ca optimă și cu maximă siguranță pentru sănătate.

Deși mecanismul de protejare al cariilor dentare de către fluoruri, nu este pe deplin elucidat, se pare că ele micșorează solubilitatea emailului în mediu acid și inhibă enzimele bacteriene producătoare ale acidului care ar ataca emailul în carie.

În ceea ce privește micșorarea solubilității emailului în prezența fluorurilor, existența a numai 0,1 ppm fluorură într-o soluție acidă este suficientă pentru a micșora solubilitatea emailului. Practic, problema care urmează a fi elucidată este aceea de a ști dacă concentrația de 1 ppm, eficace în caria dentară, poate determina diferențe destul de importante în conținutul fluorurei din smalț sau lichidele bucale, care să influențeze solubilitatea.

Micșorarea solubilității smaltului în prezența fluorurilor poate fi explicată prin :

— formarea fluorapatitei cu solubilitate inferioară hidroxiapatitei;

— formării unui strat impermeabil de CaF_2 la suprafața cristalelor de apatită, prin reacția dintre ionii Ca^{2+} și F^-, rezultați din dizolvarea fluorapatitei ;

— formarea apatitei insolubile numai în prezența ionilor de fluorură ; în absența lor s-ar forma cristale de alte tipuri, cu solubilitate superioară, ca brushita $CaHPO_4$, sau fosfatul octocalcic $Ca_8H_2(PO_4)_6$.

Efectul inhibitor al fluorurilor asupra unor enzime care favorizează reacțiile de formare a unui acid de către bacteriile existente în salivă și placa dentară, constituie cealaltă ipoteză privitoare la acțiunea anticarie a acestora.

Fluorurile în concentrație de 2 ppm în salivă, exercită un efect slab asupra producerii acidului ; creșterea concentrației lor ar putea modifica creșterea bacteriilor. Deoarece concentrația fluorurilor în salivă este de 0,1 —0,2 ppm, ele nu pot exercita, în mod real, o acțiune contra cariei dentare.

În schimb, concentrația fluorurilor în placa dentară poate atinge valoarea de 70 ppm. pentru adulții din orașe care au utilizat apă nefluorată. Deși aproximativ 95% din aceste fluoruri se găsesc sub formă legată și concentrația în ioni fluorură liberi nu depășește 1 —2 ppm, placa dentară poate avea un rol important în procesul contra cariei dentare.

deoarece fluorurile plăcii dentare sînt localizate în cea mai mare parte în corpul bacteriilor, și exercită o acțiune inhibitorie asupra acestora.

Ca mijloace practice de prevenire a cariei dentare, fluorurarea apei potabile cu conținut redus în fluoruri, sau adăugarea de fluoruri, clorurii de sodiu, pentru regiunile în care nu există rețele de distribuție a apei, sînt cele mai larg utilizate. Se mai pot folosi comprimate, paste, ape de gură cu conținut adecvat de fluoruri, aplicarea topică a unor antiseptici sau substanțe antimicrobiene ușor absorbite și cu selectivitate pentru email, a enzimelor care să inhibe activitatea cariogenezei bacteriilor etc.

În regiunile în care apa de băut este bogată în fluoruri s-a observat o scădere a osteoporozei la femei și calcifierea aortei la bărbați.

3.15.5. Toxicitate

Intoxicațiile acute cu fluor, fluoroza, sînt foarte rare, cu toate că el este utilizat, tot mai mult, în industrie și agricultură. Doza letală acută pentru om este de 2,5—5,0 g, în funcție de solubilitatea compusului și sensibilitatea subiectului. Doze minime provenite din surse naturale sau cele absorbite timp mai îndelungat, în medii de contaminare industrială, nu pot provoca astfel de intoxicații.

Intoxicațiile cronice cu fluor exercită o serie de efecte asupra smaltului dentar și al scheletului.

Cercetările efectuate asupra leziunilor smaltului dentar, cunoscute încă din 1901, sub denumirea de „*smalț pătat*", au arătat că agentul cauzal este prezența fluorului în apa potabilă, în cantități mai mari de 1,4—2,5 ppm. Sînt afectați numai dinții permanenți și numai rareori și într-o măsură mică, dinții de lapte.

Cercetări efectuate în numeroase țări indică un raport cantitativ între concentrația fluorurilor existente în apă, incidența și gravitatea simptomelor, care este influențată de condiții climaterice regionale.

Deși cauza fluorozei dentare este necunoscută, ea pare a fi legată de metabolismul calciului și fluorurilor care ar influența atît faza organică cît și cea minerală în dezvoltarea smaltului, prin : schimb ionic cu ionii hidroxil ai apatitei în țesuturile calcificate, alterarea precipitării substanțelor minerale din soluțiile saturate ale fosfatului de calciu și inhibiția sau chiar activarea unor enzime.

Cantități excesive de fluoruri naturale sau expuneri industriale îndelungate la compuși ai fluorului, produc efecte toxice asupra scheletului, cunoscute din 1937. Evaluarea exactă a dozelor care produc aceste modificări osoase nu este cunoscută ; ingerarea zilnică a 2 mg fluoruri nu prezintă nici un risc. În cazurile în care există anumite condiții agravante, doze zilnice de 2—8 mg pot duce la apariția simptomelor de fluoroză dentară și osoasă. În zonele geografice cu fluoroză endemică, cantitatea fluorurilor ingerate depășește 8 mg pe zi.

Deformări și fluoroza anchilozantă, stadiul avansat al intoxicării cu fluor, se datoresc unor expuneri neîntrerupte la 20—80 mg ioni fluorură pe zi, timp de 10—20 ani, în care, apa de băut, conține cel puțin 10 ppm fluoruri.

Decelarea clinică a fluorozei osoase în stagiul ei incipient este dificilă. În stadiul avansat au loc modificări macroscopice de structură, creșterea în greutate a oaselor fluorotice, greutatea totală a scheletului putîndu-se dubla, față de subiecții sănătoși. Compoziția chimică a oaselor se modifică : crește conținutul de fluoruri în cenușe, foarte puțin cel în magneziu, scade conținutul în carbonat, citrat și nu s-au observat modificări în conținutul calciului și fosforului.

Exceptînd efectele cronice produse de exces de fluoruri asupra smaltului dentar și a scheletului, ele pot afecta în timp, funcția normală a rinichilor.

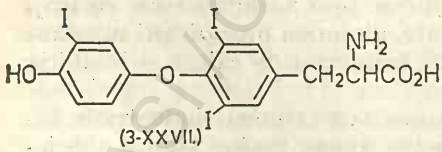
BIBLIOGRAFIE

13, 82, 109, 197, 216, 268, 316, 328, 343, 363, 364, 356, 357, 363, 364, 368, 374, 378.

3.16. Iodul (I)

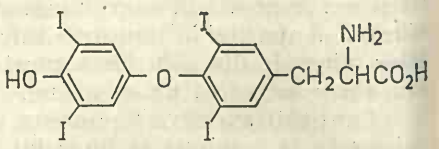
3.16.1. Generalități, distribuție

Descoperit de către Courtois, în 1811, în cenușa algelor marine, utilizate încă din antichitate în mod empiric, de vechii greci în tratamentul gușei, iodul, nemetal din grupa a VII-a, cu configurația electronică exterioară $5s^2\ 5p^5$, foarte dispersat în scoarța terestră sub formă de iodat de sodiu și de calciu, în zăcămintele de salpetru de Chile, și de ioduri, în alge marine, apele de sondă și izvoarele minerale iodurate, este un element esențial organismelor vii; are rol important în sinteza a doi hormoni produși de glanda tiroidă : triiodtironina (3-XXVII) și tiroxina (3-XXVIII), și prezintă o acțiune fibrolitică, expectorantă și bactericidă.



(3-XXVII.)

;



(3-XXVIII.)

Iodul, singurul oligoelement integrat în structura unui hormon, se găsește în organism într-o concentrație de 0,0004—0,0008 % (2), concentrat în proporție de 60—80% în tiroidă (167), al cărei volum nu depășește 0,05 % din masa corpului uman.

Comparativ cu tiroida țesuturile extratiroidiene conțin cantități reduse de iod, 0,006—0,4 % pe unitatea de masă, în mușchi 0,03 μg/100 g, în ficat 0,05 μg/100 g, în ovar 0,07 μg/100 g (167). Hipofiza, glandele salivare, bila, părul, unele părți ale ochiului și mușchiul orbicular concentrează cantități însemnate de iod (328, 342). La aceeași specie, concentrarea iodului are loc într-un grad superior în țesuturile inflamate, tiroxina fiind implicată în reacțiile de iodare a leucocitelor în fagocitoză.

Exceptînd triiodtironina și tiroxina, iodul în organism se găsește legat de proteine sub formă de compuși organici; în concentrații mici se găsește în salivă, sub formă de iod anorganic, în ioduri.

Majoritatea iodului tisular 0,2—0,5 % din masa uscată a glandei se găsește în tiroidă și variază cu specia, vîrsta, starea de gestație, anotimp și activitatea glandei; la om este de 8—12 mg, la bovine 13,3 mg, la ovine 4,8 mg (328, 167). Concentrațiile scad pînă la 1 mg sau chiar mai mult în carență de iod — concentrația de aproximativ 0,1 % fiind considerată ca limită critică, sub care, glanda nu mai funcționează normal (128).

Iodul tiroidian se găsește sub formă organică, mono și di-iodtirozină, de triiodtironină (T_3), tetraiodtironină (T_4), tireoglobulină, polipeptide cu T_4 și alți compuși ioduroți. Tireoglobulina, glicoproteină cu masă moleculară de aproximativ 650 000, constituie forma de depozitare a hormonului tiroidian și conține aproape 90 % din iodul total al tiroidei.

În sînge, iodul se găsește sub formă anorganică 0,08—0,60 μg/100 ml la om și 1—2 μg/100 ml la animale și ca tiroxină, legată în cea mai mare parte de produsele plasmatice, sau chiar și liberă în proporție de aproximativ 0,05 %. Pînă la 10 % din iodul organic al plasmei este constituit din tri- și diiodtiroxină, alături de concentrații mici de metaboliți ai tiroxinei; în stări patologice iodul plasmatic apare și sub formă de tireoglobulină și iodtirozine (167).

Concentrația iodului legat de proteine, PBI (p r o t e i n e-b o u n d-i o d i n e), ușor extras cu butanol din ser, variază cu specia animală, rasa, vîrsta, sarcina și nivelul de activitate al glandei tiroide, de la 2,1—18,3 μg/100 ml sau 1,4—6,8 μg/100 ml; la omul adult concentrația variază între 4—8, 5—6 sau 3—7,5 μg/100 ml (328) și cresc semnificativ în timpul sarcinii. Valorile serice ale PBI sînt crescute în hipertiroidism și scăzute în hipotiroidism (71).

În cursul sarcinii la femeie, PBI seric crește începînd din săptămîna a 3-a, pînă la valori care, în absența gestației ar indica hipertiroidism (328); stresul termic și tiouracilul produce o scădere a PBI seric la mamifere (206).

În lapte conținutul în iod este dependent de stadiul lactației și de aportul său alimentar și poate fi scăzut <20 μg/l, limită 20—30, normală 30—150 și excesivă > 150 μg/l la bovine. În laptele de vacă poate crește

de la 40—70 μg/l la 330 μg/l la adăugarea a 180 mg iod, sub formă de iodură de potasiu, sau de la 20—70 μg/l la 510—1 070 μg/l, prin suplimentarea hranei cu 100 mg KI/zi. Conținutul iodului în lapte, sub normal, în zone geografice gușigene, poate constitui un parametru de apreciere al acestora. Iodul este crescut în colostru : 3,4 μg/100 ml la vaci, 67 μg/200 ml la scroafe (210). Nivelul iodului în lapte crește pe măsură ce lactația avansează și secreția de lapte scade ; de asemenea este influențat de sezon, scade primăvara și vara (222). Substanțele goitrogene inhibă captarea tiroidiană a iodului anorganic iar percloraților, tiocianații și nitrații inhibă și transferul iodului în lapte, iar metiltiouracilul crește concentrația iodului în lapte, ca urmare a blocării legării lui organice în tiroidă (222). Utilizarea unor dezinfectanți pe bază de iod (iodofori) pentru spălarea ugerului este însoțită de o creștere în medie de 184 μg/l a conținutului iodului în lapte, datorită absorbției lui prin piele (147, 52).

Conținutul mediu al apelor noastre potabile, dependent de regiuni, variază între 2,53—41,50 μg/l (13).

3.16.2. Metabolism

a. *Absorbția.* Metabolismul iodului este strîns legat de funcția glandei tiroide, deoarece el intervine în sinteza hormonilor tiroidieni : tiroxina și triiodtironina. Ciclul metabolic al iodului cuprinde 3 pool-uri majore : cel al iodului anorganic plasmatic, al iodului intratiroidian și PBI din ser și din țesuturi. În cele ce urmează ne vom limita la absorbția și excreția iodului extratiroidian. Ingerat prin alimente sub formă de ioduri sau administrat oral, ca atare, sau asociat cu aminoacizi, iodul este absorbit la nivel gastrointestinal, după ce a fost transformat în iodură. După absorbție, iodura este repartizată în mod analog clorurii și bromurii, fiind conținută în mare parte în lichidul extracelular. Iodura circulantă este fixată după cîteva minute de glanda tiroidă printr-un mecanism insuficient cunoscut și oxidată rapid la iod cu ajutorul unor sisteme enzimatice. Sub această formă el participă la sinteza triiodtironinei și a tiroxinei, hormoni care, eliberați de glandă, circulă legați de proteinele plasmatice, Glanda tiroidă umană normală secretă zilnic 5,16 μg iod, sub formă de tiroxină, și 11,9 μg ca triiodtironină; în acest scop trebuie să capteze zilnic aproximativ 60 μg iod. Din tiroxina și triiodotironina circulante 10% respectiv 56% sînt metabolizate zilnic la om (216). În ceea ce privește distribuția iodului în glanda tiroidă, cercetări efectuate pe hidrolizate de pancreatină umană indică o proporție de 16,1% iod, 32,7% monoiodtiroxină, 33,4% diiodtiroxină, 16,2% tiroxină și 7,6% triiodtironină.

Absorbția iodului este interferată de tiocianați, perclorați și sărurile de rubidiu, iar As în cantități mari, induce gușa la șobolani (309).

b. *Eliminarea* iodului necaptat de tiroidă, sub formă de iodură, se face în cea mai mare parte prin urină și cantități mici prin fecale 5—20 μg/zi, prin salivă și prin transpirație (328, 155); valoarea medie a clearance-ului este de aproximativ 30 ml plasmă/min, ceea ce înseamnă că 25% din iodură este excretată din filtratul glomerular; excreția renală a iodurii este influențată de cantitatea de clorură excretată concomitent. O eliminare urinară inferioară a 40 μg/zi iod poate constitui o deficiență în iod la om, în cazul clearance-ului normal. Dealtfel, cantitatea de iod excretată este corelată cu activitatea glandei tiroide și poate constitui un indiciu al funcției sale.

Excreția urinară este crescută la pui de KI, $KClO_4$, KSCN, metiltiouracil, diuretice saline (306).

Pe baza raportului dintre cantitatea de iod introdusă în alimente, capacitatea glandei tiroide de a fixa iodul, consumul de tiroxină la nivelul diferitelor țesuturi și cantitatea de iod eliminată se determină bilanțul iodului. Menținerea acestui bilanț are loc pe baza unui mecanism de reglare, prin utilizarea iodului depus ca rezervă, sub formă de tiroxină, în glanda tiroidă.

3.16.3. Acțiune fiziologică, toxicitate

Iodul are un rol biochimic important în sinteza hormonilor tiroidieni și prezintă o acțiune fibrolitică, expectorantă, revulsivă, antiseptică și antimicotică (fungicidă).

Constituent normal al hormonilor tiroidieni, acțiunea sa este guvernată de: a) starea țesutului tiroidian (cele adenomatoase au un conținut în iod inferior); b) concentrația în sînge a iodului anorganic și c) concentrația în sînge a tirotropinei, hormon secretat de glanda pituitară anterioară, care controlează eliberarea hormonului tiroidian din glanda tiroidă.

Insuficiența iodului în organismul uman duce la creșterea prin hiperplazie a glandei tiroide și dă naștere, prin hormonul tireotrop, la gușa simplă sau gușa netoxică. Iodul este un medicament eficace în profilaxia gușei, efectul său avînd loc, se pare, nu printr-o acțiune sistematică asupra hormonului tiroidian, ci printr-o eliberare mai ușoară a acestuia.

Ca agent fibrolitic acționează favorabil asupra gomelor sifilisului secundar și terțiar, iar ca expectorant, fluidifică și favorizează secreția mucoidă a mucoaselor.

Extern, iodul are o acțiune antiseptică, hiperemizantă și fungicidă. Ca antiseptic, acționează ca oxidant și iodurant. Inhibă unele enzime

esențiale metabolismului bacterian ; nu prezintă selectivitate față de bacterii și are coeficientul fenolic de aproximativ 200. Față de țesuturi prezintă efecte hiperemizante, iar față de mucoase este iritant și corosiv.

Iodul este un fungicid eficace cu coeficient fenolic de 3 000 împotriva lui Trichophyton gypseum și Candida albicans. Prezintă, de asemenea, o acțiune amebicidă (mai ales sub formă de compuși organici) și una virocidă moderată.

Administrat mai ales sub formă de ioduri în cantități care depășesc anumite nivele în organism, produce fenomene iritative pe piele și mucoase, cunoscute sub denumirea de *iodism*, manifestate prin coriză, urticarie, conjunctivită, sensibilitate dureroasă a gingiilor și dinților, tulburări gastrice și diaree cu scaune sanguinolente. Glandele parotide și submaxilare, faringele și amigdalele pot prezenta reacții inflamatorii.

Simptomele dispar prin întreruperea medicației iodice, iar eliminarea iodurii poate fi accelerată prin regim hidric abundent și administrare de clorură de sodiu.

3.16.4. Necesarul în iod și surse de iod

Necesarul în iod al organismului uman adult este evaluat la 100—200 μg/zi, cu o medie de 140—160 μg/zi, sau chiar de 200 μg pentru copii și gravide ; o balanță pozitivă se poate realiza printr-o absorbție zilnică de 44—162 μg iod (82). La păsări, necesarul în iod este de 0,5—1,0 ppm/zi (130, 328), la oi 1—2 mg/zi, la porci 80—160 μg/zi, iar la vaci cu lapte 20 mg/zi (328). Prezența substanțelor goitrogene în hrană, cît și a unor minerale antagoniste (rubidiu, arsenul și fluorul) precum și a raportului Co : I în sol. de 1 : 0,77, a manganului în hrană în afara valorilor 0,63 și 1,33 mg/g, a cantităților mari de Co^{2+} și a excesului de calciu, cresc considerabil nevoile de iod (328, 171).

În ceea ce privește sursele de iod, deși incidența gușii a fost corelată cu conținutul în iod al apei potabile, ea furnizează organismului mai puțin de 10% din nevoile zilnice (82).

Concentrația iodului în plante variază în limite largi, în funcție de : specii, tipul de sol, anotimp și natura îngrășămintelor utilizate. Aplicarea salpetrului de Chile ($NaNO_3$), a algelor marine sau a unor deșeuri ale industriei de prelucrare a cărnii de pește, măresc simțitor concentrația în iod a plantelor și cerealelor. Pășunile conțin 300—1 500 ppb iod pe substanța uscată.

Concentrația iodului în produse animale (lapte, ouă, carne) poate crește de la 100 la 1 000 ori, prin hrănirea animalelor cu alimente bogate în iod, ingerare de alge marine sau de NaI. În general, alimentele provenite de la animale marine (pești, crustacee) au cel mai ridicat conținut

în iod, care variază între 300—3 000 ppb, produs proaspăt, comparativ cu 20—40 ppb, în carnea peștilor de apă dulce.

Fructele proaspete conțin 20 ppb iod, zarzavaturile și rădăcinoasele 30, semințele cerealelor 40, carnea 40, laptele și produsele lactate 40, iar ouăle 90. Produsele de panificație și zahărul rafinat au cel mai sărac conținut în iod (328).

O metodă simplă, ieftină și eficace de prevenire a gușii și cretinismului endemic o constituie iodarea sării cu ajutorul NaI sau KI, mai puțin higroscopică. În S.U.A. se adaugă 1 p NaI la 10 000 p. NaCl, în Finlanda 1 p NaI la 25 000 p. NaCl, în India și Marea Britanie 1 p NaI la 40 000 NaCl, în alte părți 1/10 p NaI la 10 000 p. NaCl (328). Concentrația optimă recomandată este de 1/25 000—1/50 000 și diferă de la țară la țară sau de la o colectivitate la alta. Cantitatea de iod primită de consumator depinde nu numai de forma chimică sub care este administrat iodul, dar și de gradul de puritate, umiditate, ambalaj și durata stocării. Umiditatea și prezența impurităților facilitează precipitarea iodurilor, însoțită de pierderea iodului. Ambalarea preparatelor de sare în recipiente poroase la căldură și umiditate, favorizează pierderea iodului. În locul NaI și KI se mai folosește $NaIO_3$ sau KIO_3, mai stabili, incluși în brichete de sare, în amestecuri minerale de 0,01—0,05% sau de 3—5 mg/kg sare (328), 167).

BIBLIOGRAFIE

13, 52, 71, 82, 109, 130, 147, 155, 167, 171, 206, 210, 218, 222, 264, 306, 309, 328, 342, 343, 348, 356, 357, 363, 364, 368.

3.17. Siliciul (Si)

3.17.1. Generalități, distribuție

Siliciul este un element cu caracter nemetalic așezat în sistemul periodic din grupa a IV-a principală, perioada treia, cu configurația electronică exterioară $3s^2\ 3p^2$ și are, după oxigen, cea mai largă răspîndire în natură, mai ales sub formă de silicați, aluminosilicați și bioxid de siliciu. Ținînd seama de abundența sa în scoarța terestră și asemănarea sa cu carbonul, este puțin probabil ca evoluția să-l fi exclus total de la un rol biochimic vital.

Siliciul este esențial pentru reproducția în planctonul marin, silicea avînd un rol important în formarea scheletului diatomitelor (328). Interrelația structurală dintre silice și constituenții organici ai peretelui celular al acestor organisme ca și preluarea siliciului de către unele bacterii, acumularea siliciului în celule și fracționarea particulară a acestora în

prezența sursei de energie, au fost recent demonstrate. Compușii organosilicici ar participa la reacții catalizate de către enzime, deși problema privitoare la rolul esențial al siliciului în alimentația plantelor superioare nu a fost încă pe deplin elucidată.

În plante siliciul apare ca acid monosilicic, în proporții dependente de specii, natura solului, stadiu și condițiile de creștere.

În țesuturi, conținutul siliciului în μg Si/g țesut este variabil, așa cum se poate constata din datele de mai jos în ordinea : oameni (4), șobolani și maimuțe Rhesus (5), creier : 23 ± 4,4 ; 0,8 ± 0,9 ; 1,4 ± 0,7, rinichi 40 ± 11 ; 0,5 ± 0,7 ; 1,6 ± 1,4 ; 194 ± 183 ; mușchi 41 ± 0,9 ; 0,9 ± 0,7 ; 1,2 ± 0,5 ; testicule 3,1 ± 1,6 ; 1,1 ± 1,1 ; 2,0 ± 1,2 ; noduli limfatici 489 ± 215 ; 4,1 ± 5,5 respectiv 31,9 ± 10,3 ; ficat 33,6 ± 13,8 ; 1,6 ± 1,5 ; 1,2 ± 1,2.

Concentrația în siliciu a nodulilor limfatici la adulți poate fi ridicată și pare a fi asociată cu existența unor aglomerări de granule de cuarț (123 a).

Sîngele integral la om, maimuțe și bovine conține aproximativ 1 μg Si/ml (184) și 5 μg Si/ml la ovine, sub formă de acid monosilicic.

Concentrații ridicate de siliciu, care scad cu vîrsta, se găsesc în piele și organele anexe, în aortă, trahee și tendoane. Astfel părul porcilor nou născuți conține 95 μg Si/g față de 10 μg/g la porcul adult. Conținutul în siliciu al aortei umane normale scade considerabil cu vîrsta, iar a peretelui arterial descrește cu apariția arterosclerozei.

Emailul dentar uman conține cantități de 100—450 μg/g țesut uscat, în medie 243 ± 18(10), iar laptele de vacă cantități variabile, în medie de 1,4 μg/ml, mult mai mari în colostru (328).

Siliciul este un component al mucopolizaharidelor fapt care explică conținutul său ridicat în țesutul epitelial și conjunctiv ; după Schwartz (291) cordonul ombilical conține 330—554 ppm Si, asociat cu acidul hialuronic, chondroitin 4-sulfat, dermatan sulfat și heparan sulfatul. Valori de 57—191 ppm Si asociat cu chondroitin-6-sulfatul, heparină și keratan sulfat-2, se găsesc în cartilaje, în timp ce acizii hialuronici din umoarea vitroasă și keratan sulfatul -1 din cornee, nu conțin siliciu. Cantități mari de siliciu (2 580 ppm) poate fi legat în pectine sau în acidul alginic (452 ppm). Colagenul din pielea de șoarece, de vițel și cartilajul articular, conțin 4 201, 4 369 respectiv 3 859 μg Si/g. Fiecare catenă proteică din molecula colagenului ar conține cel puțin 3—6 atomi de siliciu (292).

Siliciul este eliberat din compușii cu polizaharide, la tratare cu soluții concentrate de hidroxizi alcalini sau prin hidroliză acidă, sub formă de silicați, dializabili ; hidroliza enzimatică a acidului hialuronic sau a pectinei, nu eliberează acid silicic ci compuși cu mase moleculare inferioare cu siliciu legat. Component al mucopolizaharidelor, dizaharidele

rezultate prin hidroliza enzimatică a chondroitin sulfatului A, conțin cantități mult mai mari de siliciu comparativ cu cele obținute din chondroitin sulfatul C . După Schwartz (291) în Si-polizaharide, siliciul ar fi prezent ca „silanolat", derivat de tip eter sau ester al acidului silicic, iar funcțiile $R_1-O-Si-O-R_2$ sau $R_1-O-Si-O-Si-O-R_2$ ar avea rol de organizare structurală a glicosaminglicolilor și a poliuronidelor.

3.17.2. Metabolism

Siliciul este absorbit din alimente în tractul gastrointestinal ca acid monosilicic, silice solidă, sau asociat cu compuși organici ca pectine, mucopolozaharide (328).

Cantitatea absorbită este dependentă de conținutul în alimentație, concentrația solubilizată în fluidul gastro-intestinal, de specia animală, vîrstă.

Eliminarea siliciului se face mai ales prin urină în cantități care cresc cu creșterea aportului alimentar pînă la o anumită limită, dependente de specia animală și determinată mai ales de viteza și măsura absorbției din țesutul gastro-intestinal în sînge, unde concentrația siliciului rămîne practic constantă.

Particule microscopice de dioxid de siliciu din plante, absorbite ca atare și în mică măsură prin tractul alimentar, au fost evidențiate în nodulii limfatici și calculii urinari ai oilor. În mod analog peretele intestinal al omului este permeabil pentru particule de silice de dimensiunea diatomitelor, de unde sînt trecute în sistemul limfatic și circulator, ajung în alte țesuturi, iar prin intermediul sîngelui arterial în regiunea alveolară a plămînilor. Particule de silice au fost puse în evidență microscopic, la om, în plămîni, ficat, rinichi ca urmare a prezenței lui în praful atmosferic, ingerat pe cale respiratorie (328). În sînge se găsește în cantitate de 3,5—13,1 mg SiO_2/l (82).

3.17.3. Carență și acțiune farmacologică

Siliciul are un rol esențial în creșterea și dezvoltarea scheletului la șobolani și pui, acționînd mai ales la nivelul oaselor și colagenului.

Utilizînd o alimentație special purificată și animale complet izolate cu materiale plastice de mediul înconjurător, Schwartz și Milne (290) au demonstrat, pe șobolani sugari, o creștere a lor în greutate cu 33,8% față de martori, la suplimentarea hranei cu 50 mg Si/100 g hrană (5 ppm) sub formă de metasilicat de sodiu, $Na_2SiO_3 . nH_2O$ în soluție apoasă. Rezultate analoage au fost obținute de Carlisle (45) în creșterea puilor, unde martorii au prezentat o dezvoltare semnificativ întîrziată a sche-

letului, cu toate organele relativ atrofiate, avînd picioarele și crestele deosebit de palide.

Cu ajutorul microscopiei electronice s-a demonstrat că siliciul este localizat la nivelul suprafețelor active de creștere în oasele șoarecilor și șobolanilor tineri (45).

În procesul incipient al calcifierii oaselor, conținutul siliciului și al calciului din țesutului osteoid este foarte redus, dar crește continuu concomitent cu avansarea procesului de mineralizare. La un anumit stadiu mai avansat al calcifierii, cantitatea de siliciu scade apreciabil, astfel încît pe măsură ce conținutul în calciu se apropie de cel existent în apatita din os, cantitatea de siliciu scade la limita de detecție. Cu alte cuvinte conținutul în siliciu scade cu maturizarea procesului de mineralizare al oaselor. Raportul 1 : 1 Ca : P în centrele cu conținut ridicat în siliciu (centrele de calcifiere activă a osului) ca și raportul Ca : P de aproximativ 1,67 în apatita osului matur, sugerează corelarea siliciului cu fosforul în cadrul unei faze organice complexe care însoțesc procesul de calcifiere.

Din date experimentale in vitro, obținute pe oase de șobolani sugari alimentați cu un conținut redus ($\simeq$5 ppm), mediu (10—25 ppm) sau ridicat (250 ppm) de siliciu rezultă o creștere a vitezei de mineralizare a osului, care are loc într-un timp mult mai scurt (45).

Articulațiile oaselor lungi ale puilor hrăniți cu o dietă deficitară în siliciu sînt mult mai mici, iar conținutul în apă al oaselor este cu 34—35% mai redus; suplimentarea cu siliciu a hranei puilor este însoțită de creșterea conținutului total al hexozaminelor, al siliciului și al hexozaminelor din crestele lor, dovadă a implicării siliciului în sinteza polizaharidelor în cartilagii și țesut conjunctiv. Gama deosebit de largă a posibilităților de legare chimică a atomilor de siliciu cu formare de structuri foarte variate inclusiv cele macromoleculare, constituie un indiciu al aportului lui ca agent biologic de reticulare, privind : structura, rezistența și elasticitatea țesutului conjunctiv.

Exceptînd participarea siliciului la sinteza mucopolizaharidelor care intervin în formarea oaselor și a cartilajului articular și al altor procese în care intervin mucopolizaharidele, ca de exemplu : creșterea, menținerea și modificarea peretelui arterial, a pielii și anexelor ei, par a fi dependente de conținutul în siliciu. De asemenea legătura Si-ADN polimeraza este mai mult decît probabilă, siliciul fiind necesar în sinteza ADN-ului (381).

Siliciul a fost pus în evidență și în unele stări patologice : astfel date recente indică o legătură strînsă între demența precoce și diminuarea siliciului cerebral, creșterea depozitelor lipidice și acțiunea sa antisclerotică, conținutul său în aorta animalelor se micșorează în funcție de vîrstă, este implicat în reumatism în raport cu hormonii circulanți, excep-

tîndu-se rolul său în silicoză și în urolitiaza silicică (381). De asemenea absorbția fierului este influențată de siliciu ca urmare a formării unor complecși fer—proteină—SiO_2, care distrug transferina și degradează membranele (381).

Relația dintre conținutul siliciului în apele potabile și incidența bolilor cardio-vasculare este redată în cap. 8.

Particulele fine de silice și asbest, silicați fibroși cu compoziție complexă, produc s i l i c o z a și a s b e s t o z a, precum și tumori maligne ale pleurei și peritoneului la om și animale.

3.17.4. Urolitiaza silicică

Cu toate că siliciul este eliminat în mod normal prin urină, în anumite condiții se poate depune în rinichi, vezică sau uretră și formează calculi sau uroliți, care pot fi eliminați direct (cei mici) sau pot bloca eliminarea urinei (cei mari) și produc chiar moartea animalului. Calculii urinari conțin, în afară de bioxid de siliciu amorf și hidratat, (provenit în cea mai mare parte din acidul monosilicic absorbit), compuși minerali ai Ca, Mg și P înglobați într-o matrice organică, de natură necunoscută, probabil glicoproteică conținînd un hidrat de carbon neutru. Modul lor de formare este puțin cunoscut. Se pare că precipitarea componentelor anorganice, dependentă de suprasaturarea urinei și formarea unor centre de nucleoze joacă un rol important. Particulele solide de silice amorfă și alte particule străine, ar acționa ca nuclee (centre) de depunere a silicei din urina suprasaturată, accelerînd în același timp procesul de polimerizare al acidului monosilicic.

Creșterea ratei de eliminare urinară a silicei previne formarea de uroliți (17).

BIBLIOGRAFIE

17, 24, 44, 45, 109, 123 a, 184, 291, 292, 295, 328, 363, 364, 373, 381.

3.18. Alte elemente

3.18.1. Aluminiul

Cu toate că aluminiul este, după oxigen și siliciu, cel mai răspîndit element în natură, 7,5% din totalul elementelor, semnificația sa biologică este redusă, atît pentru regnul vegetal, cît și pentru cel animal. Concentrații de 3 000—4 000 ppm au fost semnalate în unele ferigi sau arbori și de 10—50 ppm în ierburi și trifoi uscat, în timp ce conținutul

în Al al legumelor și fructelor utilizate în consumul uman este mult mai redus, de ordinul 0,5—5,0 ppm. Părțile comestibile ale citricelor, merelor, perelor, gutuilor conțin sub 0,1—0,2 ppm Al, în timp ce în fructele cu boabe și sîmburi conținutul său este mai ridicat.

În țesuturile umane normale, deși datele sînt controversate, se pare că valorile de 0,2—0,6 ppm Al sînt frecvent întîlnite, exceptînd plămînii, unde sînt semnalate concentrații mai ridicate de 20—60 ppm, care cresc și cu vîrsta, ca urmare a acumulării prafului atmosferic. Părul conține în medie 4 ppm, lîna oilor 7 ppm, sîngele 0,05—0,5 μg/ml, iar laptele de vacă prezintă variații individuale mari de la lună la lună. Depozitarea Al în oase poate constitui un indiciu al unei osteopatii renale.

Aluminiul nu participă la nici o funcție esențială a microorganismelor, plantelor sau animalelor, cu toate că unele date indică efectele lui stimulative la creșterea unor plante de pășune, ca ovăzul, secara.

Cantitățile de aluminiu ingerate normal prin hrană sau prin contaminare din vasele de aluminiu utilizate casnic, slab absorbite, nu constituie un risc apreciabil pentru sănătate. Ingerat în cantități mari, poate produce iritații grastrointestinale și rahitism, ca urmare a interferării cu absorbția fosfatului.

Unele cazuri de encefalopatii de dializă au fost atribuite unui medicament ce conține Al utilizat pentru prevenirea sau scăderea unui hipertiroidism secundar.

3.18.2. Arsenul

Element cu caracter de trecere între nemetale și metale, situat în grupa a V-a, perioada a 4-a a sistemului periodic, cu configurația electronică exterioară, $4s^24p^3$, arsenul este unul din elementele cele mai disimulate în biosferă. În soluri normale, concentrația As este redusă $\leqslant$ 1 ppm, în apa de mare 2—5 ppb; plantele absorb din sol cantități foarte mici de arsen, iar fructele, legumele, cerealele, carnea și laptele cantități mai mici de 0,5 ppm și numai rar 1 ppm, spre deosebire de elementele de origină marină care au un conținut mult mai ridicat: 2—8 ppm peștii osoși, 3—10 ppm stridiile, 120 ppm scoicile, 40—170 ppm crustaceele marine. Făina de pește utilizată ca hrană furajeră la animale conține 2,6—19,1 ppm, cu o medie de 6 ppm As.

Conținutul în arsen al organismului adult uman normal, este de 15—20 mg sau 0,2—0,3 ppm cu variații individuale ridicate mai ales în piele (0,12), unghii (0,36), păr (0,65) ppm. După Samson, probele de păr cu o concentrație mai mare de 3 ppm trebuie considerate ca suspecte, valorile normale fiind de ordinul a 0,62 la bărbați și 0,37 ppm la femei.

Conținutul în As al sîngelui total este variabil 0,001—0,92 ppm (produs uscat) sau 0,01—0,64 ppm. La bolnavii de leucemie As este concentrat în limfocite.

Laptele de vacă conține 0,03—0,06 ppm As.

Absorbția și excreția As variază mult cu nivelul și forma chimică ingerată, compușii cei mai toxici fiind reținuți în țesuturi într-o cantitate mai mare și eliminați într-o cantitate inferioară.

Conținutul maxim în arsen al alimentelor și băuturilor este limitat în unele țări la 0,025—0,033 mg/kg greutate corporală. Cantitățile de arsen alimentar efectiv ingerate de persoane necontaminate profesional, oscilează între 0,007 și 0,06 mg/kg corp; se admite un aport zilnic de arsen de 0,05 mg/kg corp.

Unii compuși organici ai arsenului, ca acidul arsanilic, acidul 4-nitrofenilarsenic, acidul 3-nitro-4-hidroxifenilarsenic și fenilarsenoxidul stimulează creșterea unor animale ca: porci, păsări, printr-un mecanism necunoscut, asemănător antibioticelor.

Arsenul acționează ca antagonist al seleniului în prevenirea selenozei (p. 154) și ca agent antitiroidian (p. 165).

Utilizînd în hrana șoarecilor și șobolanilor de la înțărcare și pînă la moartea lor naturală, cantități de 5 μg/ml As, sub formă de arsenit de sodiu, Schroeder și col. (286) nu au obținut dovada tumorigenicității sau a carcinogenicității As și nu au observat efecte asupra creșterii, longevității sau sănătății, cu toate că acumularea sa mai ales în hematii și în aortă a fost ridicată.

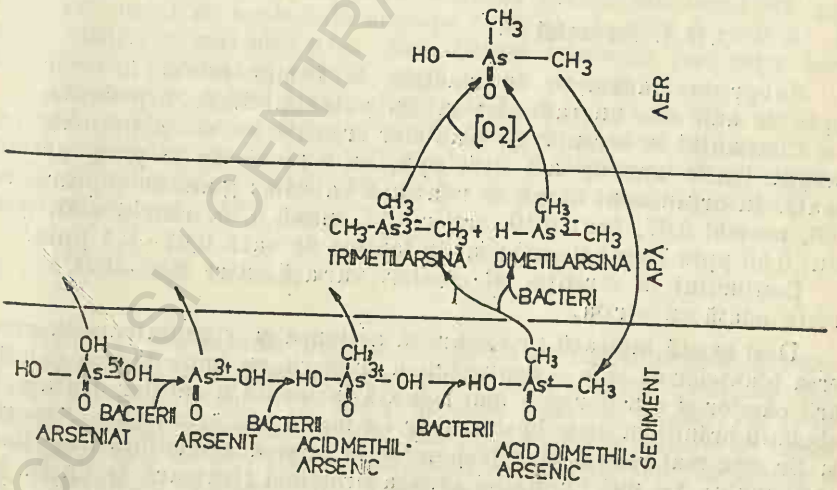


Fig. 3.20. — Ciclul biologic al arsenului, [350]

Compușii arsenului sînt reduși și transformați de către bacterii anaerobe în compuși metilați volatili: dimetil și trimetilarsina, care sînt ușor oxidați la acid cacodilic cu toxicitate inferioară.

Ciclul biologic al arsenului poate fi urmărit în fig. 3—20.

3.18.3. Bariul

Metal reprezentativ situat în grupa a II-a principală, perioada a 6-a, cu configurația electronică exterioară, $6s^2$, bariul, analog cu calciul și cu stronțiul, apare în concentrații foarte variabile în multe soluri, plante și țesuturi animale. Conținutul în bariu al multor specii de plante variază între 0,5—40 ppm, unele din ele (nucul și Fraxinus pennsylvanica) acumulînd 2 600 respectiv, 1 700 ppm Ba, iar nucile de Brazilia 3 000—4 000 ppm.

Absorbția bariului prin alimente cît și retenția sa în țesuturi este redusă: creier 0,04, inimă 0,05, rinichi 0,10, plămîni 0,10, mușchi 0,05, splină 0,08 ppm. (țesut uscat). Concentrația în organele amintite a stronțiului a fost de 3—4 ori mai ridicată, exceptînd mușchii. În 35 probe de oase provenite de la bărbați și femei normale, Sowden și col. (314 a), utilizînd analiza prin activare, au găsit, în medie 7 ppm Ba și 100 ppm Sr; conținutul în Sr crește cu vîrsta.

Deși prezența bariului pare a stimula creșterea unor plante, cît și a șobolanilor și cobailor, eventualul său rol biologic nu a fost dovedit sau confirmat.

3.18.4. Stronțiul

Subprodus radioactiv în reacțiile de fisiune nucleară, ^{90}Sr cu $t_{1/2} = 28$ ani, este un radioelement cu potențial biologic periculos.

Conținutul în stronțiu al plantelor crescute pe soluri normale variază în limite largi de la 1—169 ppm, cu o medie de 36 ppm (produs uscat). În organismul uman se relatează valorile: glandele suprarenale 0,06, mușchi 0,07, ficat 0,10, creier 0,12, inimă 0,15, rinichi 0,35, plămîni 0,50 ppm (țesut uscat); iar în laptele de vacă 0,02—0,4 ppm.

Conținutul în stronțiu al oaselor, variază între 0,01—0,024% și crește odată cu vîrsta.

Deși există indicații privitoare la acțiunea sa stimulatoare la creșterea plantelor ca și la o depresiune a creșterii, cu împiedicarea calcificării oaselor și dinților și o mai ridicată incidență a cariilor dentare la șobolanii hrăniți cu diete lipsite de Sr, ele nu au fost confirmate. Absorbția Sr este mai redusă la osteoporotici și provoacă modificări similare rahitismului. La pui Sr inhibă sinteza proteinei fixatoare de Ca în intestinul subțire și absorbția Ca la puii rahitici tratați cu vitamina D.

Sr poate substitui Ca în proporție de 25% și se depune în coaja ouălor și produce o calcifiere deficitară a scheletului.

Bromura de stronțiu are o acțiune sedativă, lactatul de stronțiu este utilizat ca remineralizant în tratamentul osteoporozei, clorura de stronțiu ca desensibilizant în stomatologie. Dealtfel, stronțiul afectează metabolismul și distribuția calciului în organism.

3.18.5. Borul

Nemetalul cu cel mai accentuat caracter reducător, cap de serie în grupa a III-a principală a sistemului periodic, cu configurația electronică $2s^2 2p^1$, borul este un element esențial pentru plante superioare.

Deoarece administrarea de borat la șobolani cu carență în bor este însoțită de stimularea sintezei ARN-ului hepatic ar fi posibil ca borul să fie un element esențial și pentru animale.

În legume, se găsește în concentrații de 25—50 ppm (produs uscat), în fructe și zarzavaturi 5—20 ppm, în ierburile din pășuni 4—7 ppm, în boabele de cereale 1—5 ppm; în citrice 0,3—2,4 ppm, iar în fructe tropicale și subtropicale 7—10 ppm.

În organismul uman, mușchii și țesuturile moi (uscate) conțin 0,5—1,0 ppm, oasele concentrații de cîteva ori mai mari; laptele de vacă conține 0,5—1,0 ppm. Aportul zilnic în bor alimentar este mult controversat, cantități de ordinul a 2—4,3 mg fiind acceptate.

Borul din alimente, ca și cel adăugat hranei sub formă de acid boric sau borat de sodiu este aproape complet absorbit și excretat, în mare cantitate, mai ales prin urină. Dintre țesuturile care reține temporar borul, creierul și tubulii renali ocupă primul loc.

Șobolanii tolerează pînă la 1 g/l acid boric în apă de băut, iar doza mortală, pentru un adult, este de 15—20 g. Conținutul în bor al unui regim alimentar zilnic de 4 200 Kcal este de aproximativ 3 mg bor conform indicațiilor FAO/OMS, acidul boric nu poate fi utilizat ca aditiv alimentar (355).

3.18.6. Bromul

Nemetal din familia halogenilor, grupa a VII-a principală a sistemului periodic, cu configurația electronică $4s^2 4p^5$, bromul este un component al organismelor vegetale și animale. Plantele marine, cît și țesuturile animale, exceptînd tiroida, conțin cantități superioare de brom, în ultimul caz, de 50—100 ori mai mari, comparativ cu conținutul în iod. Boabele de cereale conțin 1—11 ppm, făina albă 5—8 ppm, pîinea albă 1—6 ppm.

Cercetări efectuate cu ^{83}Br au arătat că el este reținut pe o perioadă scurtă de timp, de țesuturi, și este eliminat mai ales prin urină. Glanda tiroidă, în lipsă de iod, acumulează brom, care nu poate fi utilizat la sinteze de hormoni și este ușor cedat la furnizare de iod.

Concentrația medie a bromului în sîngele normal este de 3,7—2,9 μg/ml, concentrații inferioare întîlnindu-se la depresivo-maniaci.

Deși bromul poate înlocui în mod complet clorul în mediul de creștere al unor specii de alge halofite și poate substitui parțial necesarul în clorură, la pui și iodul în tiroidă, fără a participa la sinteza hormonilor, el nu prezintă o funcție vitală la plante și animale superioare.

3.18.7. Germaniul

Germaniul, element de trecere între nemetalele (C, Si) și metalele Sn, Pb din grupa a IV-a principală a sistemului periodic, a fost puțin studiat sub aspect biolcgic. A fost pus în evidență în făina albă, cu o concentrare în tărîțe, în semințe vegetale și leguminoase (0,15—0,45 mg/g), în carne, în produse lactate.

Metabolismul germaniului ingerat prin hrană este puțin cunoscut; se pare că el este ușor absorbit gastrointestinal și eliminat mai ales prin urină în curs de 4—7 zile. După Schroeder și col. adulții ar ingera prin hrană aprox. 1,5 mg/zilnic germaniu, din care 1,4 mg sînt eliminate prin urină și 0,1 mg prin fecale.

Indicațiile privind efectul stimulator al germaniului asupra eritropoezei, nu a fost confirmat.

BIBLIOGRAFIE

22, 27, 41, 81, 109, 172, 314, a, 328, 350, 355, 363.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITARY

4

POLUANȚI METALICI MAJORI

4.1. Mercurul (Hg)

4.1.1. Generalități, distribuție

Metal tranzițional din subgrupa a II-a, cu configurație electronică exterioară $5d^{10}\,6s^2$, mercurul, deși cunoscut și utilizat încă din secolul al doilea î.e.n., la început ca pigment roșu (HgS), apoi ca medicament, iar mai tîrziu ca otravă, este un element neesențial pentru organismele vii și ocupă al 16-lea loc în lista abundenței naturale.

Alături de plumb și cadmiu mercurului este unul din poluanții majori ai mediului înconjurător.

Utilizarea mercurului și a compușilor săi anorganici și organici pe scară largă în industria vopselelor, a hîrtiei, a produșilor de acoperire, în industria chimică, în electrotehnică, metrologie, stomatologie și mai ales în agricultură, pentru dezinfectarea semințelor și combaterea multor boli ale tuberculelor și bulbilor, inclusiv a roșiilor, datorită proprietăților anticriptogamice (fungicid și pesticid), a dus la contaminarea crescîndă a mediului înconjurător.

Deși conținutul Hg în atmosferă este sub 1 ppb, cel mai mare pericol în poluarea atmosferică cu mercur îl constituie emanațiile vulcanice și arderea cantităților mari de cărbuni.

Ținînd seama de conținutul Hg în apa mărilor și oceanelor, evaluat la 0,15 μg/l, principalul risc ecologic declanșat de mercur și compușii săi îl reprezintă deversarea apelor industriale de la fabricarea electrolitică a clorului și hidroxidului de sodiu, a aldehidei acetice, a hîrtiei etc. în apele continentale și maritime.

Mercurul din sol sau apă, indiferent de forma lui, este convertit de microorganisme în metilmercur, care se acumulează în biosferă. Astfel, microorganismele anaerobe de pe fundul apelor curgătoare și al lacurilor pot transforma mercurul anorganic în metilmercur CH_3Hg^+, apoi în dimetilmercur $(CH_3)_2Hg$, mai volatil, care trece în atmosferă. Metilmercurul rămîne în hidrosferă, de unde intră în lanțul alimentar clasic ; este absorbit întîi de fitoplancton, apoi de diferiți consumatori ai sistemului ecologic. Prin moartea plantelor și animalelor, metilmercurul este înapoiat (redat) sedimentelor și ciclul său în natură (fig. 4.1) se reia.

Degradarea biologică lentă a derivaților organici ai mercurului și în special a metilmercurului, are în organismul uman o viață de 70 zile, favorizează tendința lor de acumulare în organismele vii, în cantități

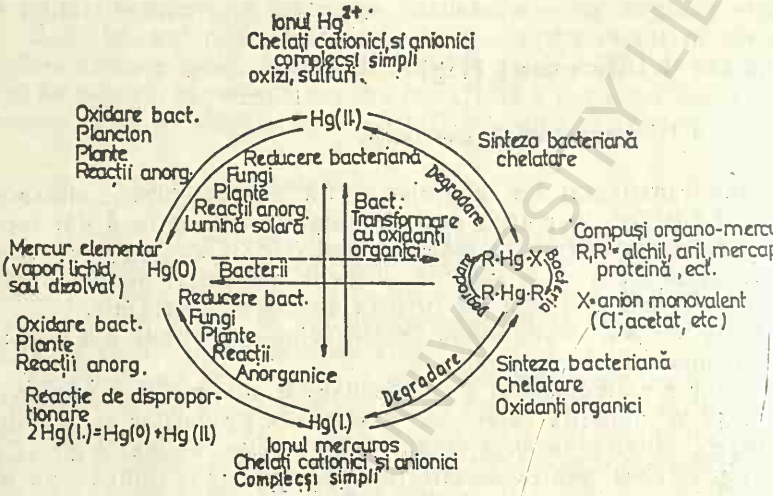


Fig. 4.1. — Ciclul mercurului în biosferă, [266]

care uneori depășesc de la o sută la o mie de ori cantitățile existente în apă. Așa de exemplu, concentrația medie în mercur a peștilor de chalut este sub 0,20 mg/kg, a thonului oceanic de aproximativ 0,28 mg/kg, iar a celui mediteranean pînă la 1 mg/kg, datorită naturii vulcanice a rocilor și zăcămintelor de mercur de la Almaden (Spania), exploatate din cele mai vechi timpuri.

Toxicitatea ridicată a compușilor mercurului și acțiunea lor disimulată constituie o amenințare extrem de serioasă pentru fauna terestră și acvatică și un pericol permanent pentru om.

Deși mercurul metalic nu este considerat toxic pentru om, practic nu este absorbit gastro-intestinal, tensiunea ridicată a vaporilor săi, 0,01 mm la 50°, 0,3 mm la 100° și 2,8 mm la 150°, facilitează, în anumite locuri de muncă, inhalarea vaporilor de mercur care este dăunătoare.

Concentrarea în mediu înconjurător a compușilor organici ai mercurului, mai ales a metil-etil-derivaților, mult mai toxici decît înșuși mercurul, prezintă cel mai mare pericol al poluării cu mercur. Caracterul covalent al legăturii alchil-Hg și afinitatea mare a Hg pen-

tru sulf și în special pentru grupele —SH ale proteinelor, pe care le inactivează datorită formării de mercaptide, Hg^{2+} fiind un precipitant puternic al proteinelor, explică lezarea cu ușurință a celulelor creierului însoțite de întîrzieri mintale congenitale, provenite din Hg^{2+} al apelor; acesta este redus de bacterii, în prezența nicotinamid adenin dinucleotidul redus ($NADH_2$), conform reacției, considerată ca un mecanism de detoxifiere :

$$Hg^{2+} + NADH_2 \rightleftarrows Hg^0 + NAD + 2H^+,$$

ca urmare a inactivării enzimelor indispensabile activității celulei nervoase. Astfel, adenil-ciclaza, cu rol important în reglarea metabolică, responsabilă de sinteza AMP-ciclic, care controlează concentrația glucozei sanguine, este inhibată de metilmercur. Membrana celulei nervoase constituie un alt punct vulnerabil pentru metilmercur, care reacționează cu plasmalogenele care conțin o grupă fosfolipidică proprie celulelor nervoase, care conține o legătură vinileter în locul legături eter comună celor mai multe lipide. Se pare că metilmercurul catalizează hidratarea și hidroliza plasmalogenelor, pentru a elibera aldehidele stearice și palmitice ale lanțurilor lipidice.

La om, metilmercurul este secretat în intestin sub forma complexului metilmercur-cisteină, ușor răspîndit prin sînge în organism. Se pare că el este confundat cu alți aminoacizi și este ușor vehiculat prin intermediul grupărilor SH ale hemoglobinei, în întregul organism. Mercurul, legat în proteine într-o membrană celulară, poate influența distribuția ionilor și potențialul electric, stînjenind astfel mișcarea fluidului și deci trecerea substanțelor nutritive prin membrane. Legarea mercurului de proteine poate produce în același timp, perturbații în funcția mitocondriilor și lizozomilor și poate da anomalii ale cromozomilor iar, prin intoxicarea fătului, produce paralizii cerebrale, înapoieri congenitale ; poate leza măduva oaselor, fibrele nervoase, ficatul și rinichii.

Dintre alchilderivații mercurului, metilmercurul este cel mai periculos, legătura Hg—C fiind foarte stabilă, el exercitîndu-și acțiunea distructivă săptămîni și luni de zile.

Compușii anorganici și aril derivații mercurului nu depășesc bariera de alimentare cu sînge a creierului, din care cauză, leziunile lor sînt reversibile, spre deosebire de cele ale metilmercurului, ireversibile. Deoarece metilmercurul se concentrează mai ales în eritrocite, această concentrație poate constitui o indicație a gradului de expunere al omului la mercur.

Toxicitatea metil și dimetil-mercurului este mult micșorată de către compuși ai seleniului, care reacționează direct cu dimetilmercurul și cu vitamina B_{12} metilată pentru a forma dimetil seleniura, volatilă,

cu toxicitate net inferioară, care se elimină pe cale pulmonară. Mecanismul de detoxicare se explică prin trecerea grupărilor metil de la ciclul metil-mercur la ciclul metil-seleniu, cu toxicitate net inferioară (fig. 4.2). Transferul metilului de la vitamina B_{12} —metilată la seleniu are loc ușor în prezența seleniților alcalini; mult mai greu are loc transferul grupărilor metilice de la dimetilmercur la seleniu, care necesită săruri anhidre ale seleniului.

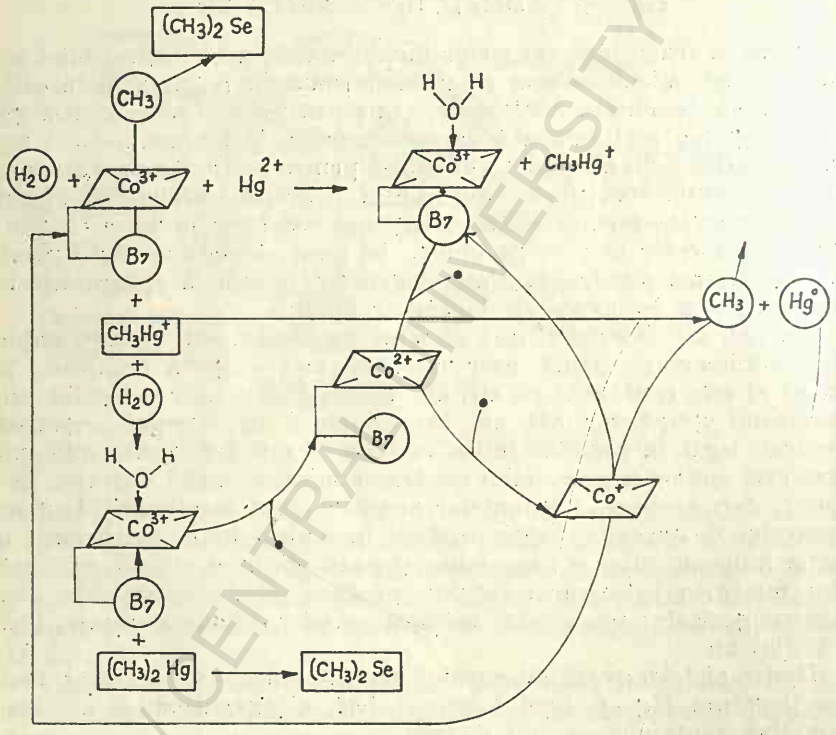


Fig. 4.2. — Trecerea de la ciclul alchil-mercurului la ciclul alchil-seleniului, [350]

Intoxicațiile acute cu mercur sînt accidentale; ele produc iritarea sau chiar distrugerea țesuturilor, iar ca simptome: febră, tuse și sufocații.

Intoxicațiile cronice, întîlnite la persoanele expuse timp mai îndelungat la vapori de mercur sînt însoțite de inflamații ale gingiilor, tremurături, un dezechilibru neuropsihic numit eretism, ale căror simptome duc pînă la schimbarea personalității indivizilor.

Consumul alimentelor infestate cu mercur și în special al peștilor thon, espadon, constituie principala sursă de contaminare a omului cu mercur. În literatură sînt descrise numeroase cazuri mortale la populația din Irak (1961 și 1972), Pakistan (1963), Guatemala (1966), Arabia Saudită (1967), în urma consumării de cereale tratate în prealabil cu compuși organici ai Hg sau adevărate „epidemii" ca cele de la Minamota (1953) și Nugata (1965) din Japonia (351, 491).

Menționăm de asemenea mortalitatea crescută a păsărilor granivore și răpitoare, imediat după însămînțarea cîmpului, a oamenilor și animalelor alimentați cu grîu tratat cu substanțe fungicide pe bază de mercur (cianmetil mercur guanidina, diciandiamida metilmercur, etilmercur p-toluensulfonanilida, etil, metil s.u metoxietil mercurul (ceresan) etc.).

În multe țări au fost luate măsuri severe pentru combaterea poluării și evitarea ulterioară a cazurilor de intoxicații, interzicînd sau limitînd utilizarea compușilor organici ai Hg în industria hîrtiei, în agricultură, a deversării reziduurilor care conțin Hg și impunînd restricții pescuitului și vînzării peștelui în anumite zone.

Conform recomandărilor Comitetului mixt de experți în aditivi alimentari ai FAO/OMS (11), dozele săptămînale tolerabile temporar sînt de 0,3 mg Hg total de persoană, dintre care mai puțin de 0,2 mg sub formă de metilmercur, CH_3Hg^+, (exprimat în mercur), ceea ce corespunde la 0,005 mg și 0,0033 mg/kg corp. În cazul în care, aportul mercurului alimentar depășește 0,3 mg săptămînal, se recomandă determinarea compușilor metilmercurici; dacă excesul se datorește exclusiv compușilor anorganici ai mercurului, limita de mai sus nu se aplică și va trebui reevaluată, ținînd cont de totalitatea factorilor prezenți (355).

La un coeficient de securitate de aproximativ 10, se acceptă o concentrație de aproximativ 0,02 μg/g metilmercur în sîngele total și de 0,04 μg/g în eritrocite (359).

Distribuție. Mercurul (vapori) este ușor absorbit în plămîni unde rămîne pînă la 7 ore, înainte de a fi oxidat de către oxigen și trece, sub formă ionică în sînge; se localizează, în cea mai mare parte, în rinichi, ficat și splină.

Concentrația medie în țesuturi uscate este de 0,5—2,5 ppm, cu valori mai ridicate în : piele, unghii, păr, ficat, plămîni și mai ales în rinichi, unde concentrația medie este de 2,75 ppm.

După Goldwater, 74% din populația normală conține mai puțin de 0,005 μg Hg/ml și 98% mai puțin de 0,05 μg/ml.

În hematii, concentrația Hg este dublă comparativ cu plasma (343), iar în urina umană foarte variabilă; concentrația critică peste

care Hg devine suspect ca toxic este de ordinul 0,1—0,2 μg/ml.

Emailul exterior al dinților conține în medie 2,8 ppm, iar cel interior 2,3 ppm.

La subiecții cu expunere necunoscută, dar anormală la Hg, vîrful părului conține 5,5, părul pubic 1,6, unghiile de la mîini 7,3, și de la picioare 2,4 ppm; aceste cantități sînt mult crescute la indivizii cu expunere dentară accidentală sau industrială. Concentrația de Hg de 230—280 ori mai mare în păr, comparativ cu sîngele, poate fi utilizată la determinarea gradului de expunere la Hg (193).

Influența Hg asupra absorbției și transportului Cu, și Cd sînt redate la pag. 102, 186.

4.1.2. Metabolism

Absorbția mercurului este dependentă de calea de preluare și de forma chimică. Inhalat sub formă de vapori este absorbit aproape integral prin alveole (193), în timp ce absorbția prin piele și pe cale digestivă sînt mult mai reduse, în ultimul caz sub 2%. În funcție de natura chimică compușii organici sînt absorbiți în proporție de 50—95%, comparativ cu $HgCl_2$, 30% (331). Astfel fenil și metilmercurul are o absorbție intestinală aproape identică de cea parenterală (193).

Transferul în sînge al mercurului absorbit este dependent de curba sa de expunere și de forma sa chimică. Inhalat sub formă ionică, în sînge, este oxidat rapid și legat de proteinele plasmatice; cantități mici neoxidate străbat bariera hematoencefalică producînd tulburări nervoase grave.

Retenția și distribuția mercurului în țesuturi este dependentă de forma sa chimică, de specie și de rasă (351). Compușii organici sînt reținuți într-o proporție mai mare, comparativ cu cei anorganici (150). Intracelular Hg se găsește în proporție de 80% în citoplasmă, mai ales în fracțiunea microzomală.

La om Hg se acumulează în rinichi, care conțin în medie 2,75 ppm TP față de 0,05—0,3 ppm în majoritatea țesuturilor, inclusiv pulmonul și ficatul. Sîngele conține sub 0,005 μg Mg/Hg/ml din care în eritrocite de două ori mai mult decît în plasmă.

Retenția Hg de către țesuturi embrionare și tinere este superioară celor adulte, fapt care explică toxicitatea sa superioară la fetuși și nounăscuți.

Transferul placentar al Hg anorganic este redus în timp ce sub formă de compuși organici trece ușor la fetușii de om sau de animale.

b. *Eliminarea* mercurului are loc cu precădere prin fecale și numai cantități mici prin urină și cantități neînsemnate prin lapte (de ex. 0,17% în 14 zile în laptele de vacă).

BIBLIOGRAFIE

4, 15 a, 49, 53, 103, 109. 179, 189, 193, 231, 236, 237, 240, 244, 282, 318, 328, 349, 351, 355, 359, 360, 366, 367, 378.

4.2. Cadmiul (Cd)

4.2.1. Generalități, distribuție

Cadmiul, element din subgrupa a II-a, cu configurație electronică analoagă zincului, $4d^{10}5s^2$, pe care-l însoțește în minereuri, mai ales sub formă de sulfură și carbonați, are largi aplicații industriale, ca strat anticorosiv pentru fier și articole de oțel, în industria coloranților, a maselor plastice, a acumulatoarelor alcaline, a aliajelor ușor fuzibile de lagăre, de turnare, de lipit, tipografice; în industria nucleară — ca moderator, și în stomatologie. Alături de mercur și plumb este considerat ca unul din poluanții metalici majori, cu toate că, date noi, indică o încetinire a creșterii șobolanilor și caprelor la o alimentație săracă în cadmiu (8). Deoarece organismul nu dispune de mecanisme homeostatice de reglare a concentrației tisulare a cadmiului la aporturi diferite, nivelul său total din organism este dependent direct de aport (231).

Distribuție. Deși cadmiul pare a fi un microelement neesențial (5), practic absent la naștere, el se acumulează în țesuturi cu vîrsta datorită timpului său de înjumătățire deosebit de lung: atinge o concentrație maximă superioară în țesuturile masculilor, comparativ cu a femelelor, la vîrsta de 50 ani (355). Organismul unui individ mediu, nesupus unei contaminări profesionale, conține 20—30 mg Cd, dintre care 50—75% în rinichi și ficat; valorile sînt mult mai ridicate la mongoli și japonezi. Concentrațiile maxime de Cd se găsesc în cortexul renal; țesutul testicular manifestă o afinitate particulară față de Cd.

Concentrația medie a Cd în sîngele uman este de aproximativ 0,5 μg/100 ml, iar în urină de 10—12,7 μg/l, cu variații largi între 2—22 μg/l (328). La muncitorii expuși oxidului de cadmiu pulbere, valorile în urină variază între 40—420 μg Cd/l, cu o localizare inițială în plămîni, urmată de o redistribuire în întregul organism și o acumulare în concentrații de 10—100 ori peste normal, în rinichi și ficat (328). Concentrații tisulare ridicate ale cadmiului se mențin încă mulți ani de la încetarea expunerii, ceea ce denotă o mică viteză de eliminare.

Concentrații ridicate de cadmiu, aproximativ 50 μg/l în urină, prezintă indivizii hipertensivi (cap. 8), comparativ cu martori, aproximativ 1 μg/l. Părul bărbaților conține 2,76 ± 0,48 μg/l, iar al femeilor 1,77 ± 0,34 μg/l; conținutul ficatului, rinichilor și părului în Cd poate constitui un indicator important în profilaxia tulburărilor ce ar putea fi provocate de acest element.

Conținutul cadmiului la animalele sălbatice este de obicei inferior organismului uman, iar al laptelui de vacă scăzut și foarte variabil în funcție de zona geografică; laptele de femeie conține 0,011 ppm.

Căile de contaminare a organismului uman cu cadmiu sînt strîns legate de absorbția prin alimente, apă și mediu înconjurător și poate fi urmărit în fig. 4.3. (179).

4.2.2. Metabolism și interacțiuni cu zinc și alte elemente

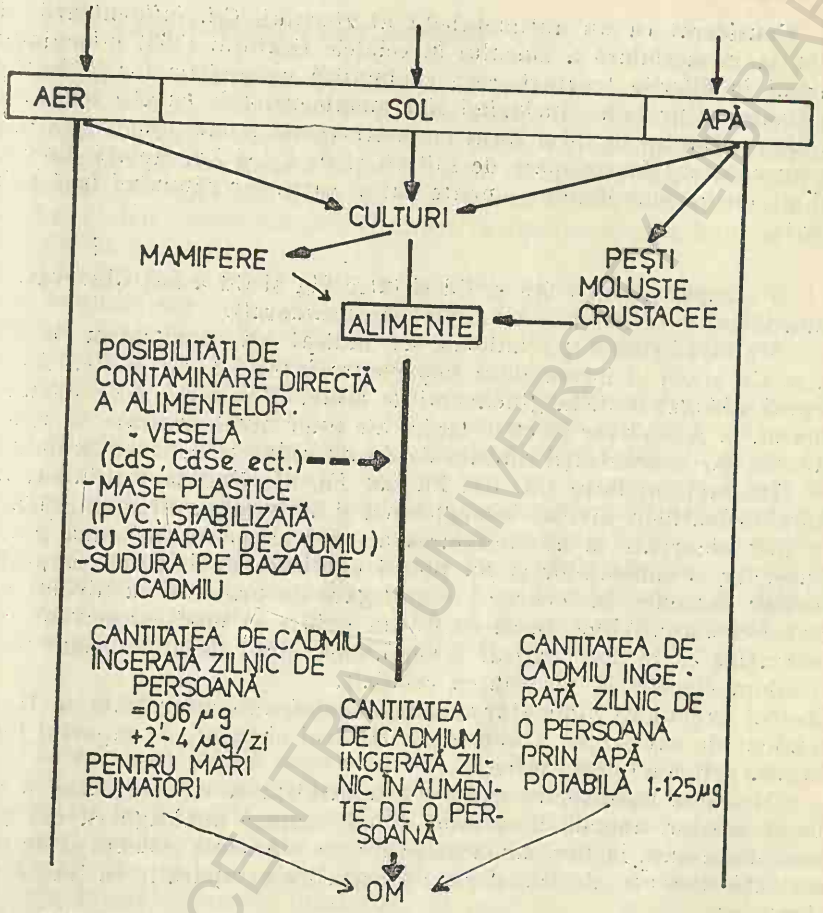
a. *Absorbția* cadmiului are loc pe cale digestivă și respiratorie. Din cantitatea de cadmiu îngerat numai o parte, între 5—10% este absorbită în duoden, ileon și jejun (328), ea depinzînd de doză, vîrstă (maximă la nou-născut și la sugar (317)), de factori dietetici ca : aportul în proteine, calciu, vitamina D și alte oligoelemente, în special Zn.

În funcție de starea fizică a substanței inhalate, concentrația Cd absorbită prin inhalare este mult ridicată și variază între 10—40%; după 30 minute de la inhalare, Cd apare în ficat și rinichi.

Cadmiul de origină alimentară se acumulează, în special în rinichi și în ficat, și are o perioadă biologică foarte lungă, care variază între 18—23 ani. Leziuni renale apar numai la o concentrație a cadmiului în cortex, care depășește 200 mg/kg organ proaspăt. Ele sînt însoțite de o ușoară proteinurie, cu diminuarea celor cu mase moleculare inferioare, de glicozurie, aminoacidurie anormală, incapacitate de concentrare sau excreție, o urină puternic acidă și hipercalciurie. Blocajul renal este rar întîlnit, dar hipercalciuria poate provoca o lipsă a calciului și osteomalacii.

În organism, cadmiul este legat mai ales de m e t a l o t i o n e i n ă, proteină cu masă moleculară mică (5 000—10 000), existentă în cantități mari în ficatul animalelor expuse la cadmiu și în proteine analoage din mucoasa gastrointestinală și cortexul renal, cu rol important în transportul și stocajul său selectiv. Conține un număr mare de grupări SH și poate fixa pînă la 11% Cd, Hg, Zn sau Cu.

b. *Eliminarea Cd* are loc preponderent prin fecale (231) și este dependentă de cantitatea îngerată pe cale orală sau administrată parenteral. În exces de aport, cadmiul se poate elimina și pe cale urinară. De altfel capacitatea rinichiului de a înmagazina Cd este ridicată



CANTITATEA DE Cd. ADMISĂ ZILNIC (temporar) = 60 — 70μg

Fig. 4.3. — Contaminarea cu cadmiu a omului, [179]

(~ 200 μg/g TP, în cortex), după care apare proteinurie, cînd concentrația Cd urinar crește de 50—100 ori (231).

Eliminarea prin lapte a Cd este extrem de redusă și nedetectabilă; de asemenea transferul lui placentar este redus.

c. *Interrelații ale Cd*

Metabolismul cadmiului este mult afectat de administrare de Zn, Cu, Ca și alte metale, cadmiul influențînd la rîndul lui metabolismul Zn, Cu, Fe.

Considerat ca un antimetabolit al zincului, Cd, influențează distribuția intracelulară a zincului în celulele ficatului (363) înlocuindu-l parțial în diferite țesuturi, ceea ce implică competiția lor la locurile de fixare de proteine, incluzînd zinc-metaloenzimele cu atît mai mult, cu cît conținutul în Cd și Zn al metalotioneinei renale umane, proteină cu un conținut foarte mare de sulf cît și de Cd și Zn, izolată din ficatul și rinichii mamiferelor — poate varia, suma lor rămînînd însă constantă.

O competiție între Zn și Cd și între Hg și Cd a fost observată în transportul prin peretele intestinal (transumoral).

Studii efectuate pe animale au indicat un antagonism mutual între Cd și Zn și interacțiuni importante între Cd, Cu și Fe. Astfel, cuprul adăugat în dieta gîndacului de făină, Triboliu m confusiu m, a redus ușor efectele toxice ale unor nivele ridicate de zinc și cadmiu, iar concentrații ridicate de Zn au redus toxicitatea cadmiului.

Interacțiuni între Cd, Cu, Zn sau Fe, afectînd mortalitatea, numărul hematiilor, nivelul hemoglobinei și activitatea citocromoxidazei, au fost observate la administrarea acestor elemente în hrana puilor, șoarecilor și șobolanilor și nu pot fi explicate decît prin competiția acestor elemente, la locurile lor de legare de proteine, la nivelul mucoasei celulare. Alimentarea cu Cd nu reduce în mod consecvent concentrațiile Zn în țesuturi (sau invers), chiar dacă fiecare element poate ameliora efectele și toxicitatea celuilalt.

Efectul cadmiului alimentar asupra zincului alimentar pare a fi dependent de cantitățile absolute ale fiecărui element, de raportul lor și durata perioadei de hrănire.

Hrănirea iepurilor cu cadmiu este însoțită de o hiperplazie a măduvei oaselor, anemie hipocromă și microcitară analoagă cu cea produsă de carența în fier, iar la prepelițe, de o anemie ridicată și de concentrații crescute ale transferinei plasmatice comparativ cu transferin-albumina.

Un bilanț limită al cuprului poate diminua toleranța cadmiului care poate jena absorbția cuprului în intestin; la șobolani și pui de găină cadmiul mărește nevoile cuprului în vederea creșterii, a sintezei hemoglobinei și asupra vieții lor. Un regim sub 3,5 mg/kg este însoțit la miei de scăderea cu 78% a nivelului cuprului hepatic, iar ingerarea cadmiului de către oi gravide, reduce transferul cuprului la foetus.

Conținutul calciului din alimente poate determina modificări în absorbția și toxicitatea Cd. Astfel un aport redus de calciu este însoțit de o creștere semnificativă a absorbției și concentrației Cd în ficat și rinichi; un aport crescut de Ca în prezența unui exces de Cd determină o creștere a mortalității la șobolani.

4.2.3. Cadmiul și hipertensiunea

Se știe că multe medicamente hipotensive complexează ioni a metalelor tranziționale chiar în cantități mici, hipertensiunea arterială fiind corelată cu un exces de Cd. (130, 174). Urina hipertensivilor elimină cantități semnificativ superioare de metale, inclusiv Cd, în proporție de ~ 50 μg/l, comparativ cu 1 μg/l la subiecții normali. Conținutul cadmiului renal este mult ridicat la hipertensivi, la fel proporția Cd—Zn în țesuturi.

Administrat injectabil sau în cantități de 5 μg în apă de băut a unor anumite sușe de șobolani, cadmiul poate produce hipertensiune arterială, mărește reabsorbția renală a sodiului și determină o creștere a concentrației plasmatice a reninei la șobolani.

Asocierea bolii hipertensive sau a celor vasculare degenerative la om, cu o concentrație tisulară ridicată în cadmiu este încă controversată. Hipertensiunea instalată experimental la șobolani în urma administrării a 5 ppm Cd în apa de băut sau i.p. a fost anulată prin injectarea sării zinc-disodice a acidului transciclohexan-1,2-diamintetraacetic, Na_2—Zn—CDTA, care a fixat cadmiul sub formă de complex chelat cu constantă de stabilitate superioară chelatului de zinc (328).

Administrat în hrana puilor de găină, cadmiul produce modificări degenerative în elastina aortică, a cărei formare necesită o hrană care conține cantități suficiente de cupru (363).

4.2.4. Cadmiul și reproducerea

Parizek a arătat că injectarea a 0,02—0,04 mM $CdCl_2$/kg corp la șobolani, induce o necroză hemoragică selectivă asupra testiculelor și o sterilitate permanentă a animalului. Efecte similare au fost observate la șoareci, iepuri, cobai etc. Sensibilitatea testiculelor la administrare subcutană de cadmiu este dependentă de genotip. La animalele cu testicule intraabdominale (păsările), Cd provoacă o involuție reversibilă atît a testiculelor cît și a ovarelor; la animalele cu testicule extraabdominale (mamiferele), Cd produce o involuție ireversibilă germinală a testiculelor, fără a afecta manifestările sexuale (366). Cu excepția porumbeilor, cocoșilor și a broaștelor refractare la efectul Cd asupra testiculelor, testiculele tuturor speciilor de animale sînt sensibile la administrare intratesticulară de cadmiu.

Deși nu se cunosc cauzele specificității remarcabile a Cd pentru testicule, există indicii că, necroza ar fi cauzată, în primul rînd, de interferența Cd cu aprovizionarea cu sînge a acestora. Zincul, Se, hormonii oestrogeni și unii compuși tiolici (cisteina, BAL, glutationul) exercită un efect de protecție a animalelor.

Distrugerea vascularizării testiculare s-ar datora unor interferențe cu grupări tiolice esențiale. Modul în care Zn protejează testiculele în intoxicațiile cu Cd nu este cunoscut, zincul manifestînd, așa cum se știe, un rol specific în dezvoltarea testiculară și în spermatogeneză. Administrarea unor doze similare la femelele adulte nu este însoțită de modificări morfologice a ovarelor și nici de sterilitate, în timp ce la femelele tinere care nu ovulează apare o necroză hemoragică masivă. Injectarea de săruri de Cd la femele de șobolani gestante duce la întreruperea gestației, prin resorbție sau prin eliminarea născutului mort.

Dacă injectarea a avut loc în ultimele 4 zile de gestație au fost observate simptome neobișnuite ale toxicității, cu mortalitate ridicată, în timp ce după o administrare injectabilă a cadmiului, chiar în doze superioare, pînă în ziua a 17-a a gestației, animalele supraviețuiesc. Selenitul sau seleniatul de sodiu, sau sărurile de zinc administrate parenteral, protejează femelele adulte împotriva efectelor toxice ale Cd. În cazul tratamentului cu compuși ai seleniului s-a observat o scădere simțitoare a conținutului de Cd în ficat, lapte și la sugari și o creștere a lui în sîngele mamelor, în timp ce protecția cauzată de săruri de zinc s-ar datora reducerii toxicității cadmiului prin creșterea excreției lui din organism prin rinichi, intestin sau pe cale biliară.

4.2.5. Toxicitate

Intoxicația acută cu cadmiu, ca urmare a inhalării lui consecutive timp de 5—7 zile în medii contaminate, se manifestă prin iritație bronhică, tuse, dispnee și emfizem pulmonar, cu o mortalitate de aproximativ 15% (174). Intoxicațiile acute, ca urmare a ingerării digestive sînt mult mai rare și însoțite de greață, vomă, crampe și dureri abdominale.

În intoxicații subacute și cronice apare pigmentarea galbenă a smaltului dentar de la colet în sus, ca urmare a formării CdS, astenie, anemie hipocromă, tulburări digestive, bronșită cronică sau emfizem pulmonar cronic, leziuni renale (proteinurie) (262 a, 135) și leziuni osoase.

Eliminarea urinară de β-2-microglobulină poate fi corelată cu expunerea la Cd și utilizată în scop diagnostic (366).

Utilizarea ca hrană a orezului crescut în orezării irigate de apa unui rîu poluat cu Cd, provenit de la o uzină de zinc, a provocat în Japonia (1968) boala denumită „I t a i - i t a i", caracterizată printr-o proteinurie tubulară cu osteomalacie și o fragilitate mare a oaselor și excreția urinară crescută a Cd (130, 174).

În doze letale Cd provoacă inhibarea fosforilării oxidative în mitocondriile hepatice (231).

Unele efecte toxice ale Cd pot fi diminuate de Se, Zn, Co, Ca și de substanțe ce conțin grupări tiolice.

Deși nu s-a stabilit cu precizie o relație între cauză și efect, la om Cd mai este implicat în ateroscleroză, hipertensiune primară, cancerul prostatei.

BIBLIOGRAFIE

4, 8, 15 b, 49, 68, 91, 103, 104, 109, 129, 130, 174, 179, 181, 192, 231, 236, 237, 240, 245, 262 a, 282, 317, 318, 328, 343, 349, 355, 360, 363, 366, 367, 375, 377, 378.

4.3. Plumbul (Pb)

4.3.1. Generalități, distribuție

Element reprezentativ din grupa a IV-a, cu configurație electronică exterioară $6s^26p^2$, cunoscut și întrebuințat din cele mai vechi timpuri plumbul a constituit și constituie un poluant major al mediului înconjurător. Principalele lui surse de răspîndire în mediu înconjurător s-au deplasat în zilele noastre de la obținerea și aplicațiile lui industriale în metalurgie, a țevilor de apă, a aliajelor, acumulatoarelor, vaselor de ceramică smălțuită, vopselelor, insecticidelor, țigărilor etc., la gazele de eșapament a motoarelor care folosesc carburanți cu cifră octanică ridicată. Ei conțin un amestec de tetraetil, trietilmetil, dietildimetil, etiltrimetil și tetrametil plumb, alături de 1—2 dihalogenoetani, pentru a evita acumularea produselor de descompunere a etilplumbului în camerele de ardere. În timpul arderii, tetraetilplumbul se descompune în oxid de plumb care formează cu dihalogenoetanii, mai ales PbClBr, alături de mici cantități de sulfat, $PbSO_4$ și oxid de plumb PbO (68). Halogenurile de plumb, puțin stabile, se transformă în carbonați, carbonați bazici și oxizi fin divizați.

Poluarea produsă crește cu numărul autovehiculelor utilizate, distanța de șosele cu trafic intens, direcția vîntului, precipitații, altitudine, anotimpuri, cu un maxim iarna (369). Concentrația plumbului în orașe, invers proporțional cu distanța față de arterele principale de circulație, în lungul cărora se depun particulele mai mult sau mai puțin fine, crește cu mărimea acestora de la 0,5 μg Pb/m^3 în orașe cu 500 000 locuitori la 0,5—2 μg Pb/m^3 pentru orașele cu 1 milion locuitori și la aproximativ 3,2 μg Pb/m^3 pentru cele cu 2 milioane locuitori (369).

O concentrație de 2 $\mu g/m^3$, pe o perioadă de 3 luni, prezintă un risc public.

Alimentația și băuturile constituie surse majore (370, 19), ele nu depășesc 1 ppm. După Patterson concentrația tipică globală, în cazul contaminării, este de 0,2 ppm, cu o ingerare care însumează, prin dietă de 0,4 mg Pb/zi : 0,01 mg din apă, 0,026 μg din aerul urban (0,01 din cel rural) și 0,024 mg din fumul inhalat prin consumul a 30 țigări/zi.

După OMS—FAO concentrația plumbului admisă în apa potabilă este de 0,10 mg/l pentru Europa și 0,05 mg/l pentru S.U.A. În condițiile de contaminare prin surse diferite, concentrația la plumb a apei potabile nu poate depăși 0,52 mg/l.

Concentrația normală a Pb în aer este de 0,1—3 $\mu g/m^3$, cu depășiri mari în zone industriale, inclusiv cele de combustie a cărbunilor.

Nivelul plumbului în alimente prezintă variații însemnate în funcție de gradul de poluare a zonelor geografice : 0,25 ppm în legume, 0,20 ppm în fructe, 0,25 ppm în cereale, 0,14—1,65 ppm în carnea de vacă, 0,084—0,585 în cea de porc, 0,15—1,25 în grăsimea de porc, 0,2—0,7 în viscere, 0,12—1,80 în pește, 0,2—0,4 în lapte de vacă, 0,198 în lapte praf și 0,02—1,0 în ouă. Furajele conțin între 0,2 și 10,0 ppm.

La adulți doza zilnică admisă este de zero ppm, iar cea tolerabilă săptămînal de 3 mg $\simeq$ 0,05 mg/kg (OMS—FAO 1972).

Distribuție. Ținînd seama de poluarea crescîndă a mediului cu plumb, este dificil de stabilit nivelurile considerate ca normale în țesuturi. În condiții normale de mediu, concentrația Pb în sînge la om este cuprinsă între 15—40 μg/100 ml, cu o valoare medie de 25 μg/100 ml fiind legat în proporție de 90% de eritrocite. Concentrațiile de 50—80 μg/100 ml sînt considerate toxice, la bovine 0,18 $\pm$ 0,10, μg/ml, cabaline 10,7 $\pm$ 0,50 μg/100 ml, porci 0,7 $\pm$ 0,3 ppm, oi 0,36 $\pm$ 0,22 ppm, cîini 0,2—0,82 ppm. În sînge la toate speciile cea mai mare parte a Pb este legat de eritrocite ; Pb neeritrocitar pare a fi fixat de microliganzi în plasmă.

Distribuția Pb în țesuturi depinde de cantitate, formă chimică și calea de administrare. Administrat pe cale orală este reținut în principal în rinichi, cu predilecție în cortex, în ficat și în mai mică măsură în alte țesuturi. Plumbul este stocat sub formă de fosfat în cea mai mare parte în schelet : 77,4% în intoxicație acută, 91% în cea subacută și 98% în cea cronică, concentrația Pb în oase fiind de 10—15 ppm os degresat ; ea crește constant cu vîrsta, probabil, ca urmare a înlocuirii izomorfe a Ca^{2+} din hidroxiapatită cu Pb^{2+}. În condițiile unei activități metabolice crescute sau de hipofosfatemie, poate avea loc o mobilizare a Pb depozitat în oase, otrăvirea cu plumb, putîndu-se astfel suprapune afecțiunii inițiale. Insolubilitatea fosfatului de plumb $Pb_3(PO_4)_2$, cu $P_s = 1,5 \cdot 10^{-32}$ și a Pb(OH)Cl, limitează concentrația ionilor liberi ai Pb^{2+}, în condiții fiziologice, dar prelungesc expunerea organismului la plumb pe perioade lungi.

Administrat i.v. plumbul este fixat în concentrații mari în ficat, splină, măduvă osoasă, în concentrații medii în eritrocite, rinichi, oase și în concentrații mici în alte țesuturi.

La om concentrațiile tisulare normale ale Pb, în mg/100 g TP, sînt de ordinul: 0,67—3,59 în oase; 0,04—0,28 în ficat, 0,02—0,16 în rinichi, 0,01—0,7 în splină, 0,04 în cord și 0,01—0,09 în creier. Valori de diagnostic prezintă concentrațiile Pb în ficat, din cortexul renal, din os și din păr, raportul Pb din păr și cel tisular este de 0,941 la șobolani și bovine. De asemenea evidențierea acidului Δ—aminolevulinic (ALA) în urină, ar putea constitui un test de selecție timpurie a expunerii riscante la plumb, ținînd seama de nivelele crescute de acest acid, în urina intoxicațiilor cu plumb. Astfel la o plombemie care depășește 40 μg/100 g eliminare urinară, ALA crește.

Distribuția și retenția Pb în țesuturi este influențată de ionii de calciu, fier, fosfați, de ioduri, $NaHCO_3$, agenți de chelatare, vitamina D, hormonul paratiroidian. Carența în fier favorizînd retenția Pb în țesuturi, un aport suplimentar de fier reduc riscul intioxicației cu Pb. Plumbul traversează greu bariera hemato-encefalică, din care cauză concentrația sa în SNC este redusă, inclusiv în intoxicații.

Plumbul traversează bariera placentară, poate cauza moartea embrionară, avorturi sau produce efecte teratogene.

Laptele conține cantități mici de plumb, evaluat la femei la 0,02—0,40 ppm, la vaci 0,006—0,013 ppm sau chiar 0,042 ppm, 0,11—0,15 ppm. Conținutul Pb în lapte de vacă crește considerabil la administrarea orală de compuși ai Pb.

4.3.2. Metabolism

a. *Absorbția* plumbului este lentă și are loc pe cale gastro-intestinală și mai rar prin tractul respirator, ca urmare a inhalării pulberilor fine, a aerosolilor sau a compușilor volatili; absorbția subcutanată sau intramusculară, este rar întîlnită și prezintă interes numai în cazurile alicelor de plumb sau a gloanțelor implîntate în țesuturi. Absorbția digestivă a plumbului ingerat este de 5—15% la om, 10% la bovine, 1—2% la ovine, fiind superioare la organismele tinere, poate crește mult la persoanele cu regim deficitar în calciu sau cu carență gravă.

Mecanismul absorbției nu este cunoscut fiind mai activ la nivelul stomacului, duodenului și intestinului subțire și practic nul în colonul terminal.

Gradul de absorbție este influențat de solubilitatea sărurilor și compoziția hranei, un conținut ridicat în glucide, proteine, calciu, fier, fosfați, seleniu, inhibă absorbția. Deficitul în vitamină D reduce absorbția Pb, iar cea de calciu o stimulează.

Absorbția Pb pe cale respiratorie, dependentă de dimensiunea particulelor, are loc rapid în proporție de 70—100% ; particule cu diametru mediu de 0,1—1,0 μ se depun (absorb) în proporție de 90% în pulmoni.

b. *Excreția plumbului* se face prin fecale, bilă și urină. Astfel prin absorbție, plumbul ajunge în sînge și apoi în oase, în țesuturi moi, inclusiv în ficat, de unde este excretat prin bilă în intestinul subțire și apoi eliminat prin fecale, care conțin, alături de mici cantități de plumb absorbit și majoritatea celui neabsorbit.

Eliminarea urinară a plumbului se desfășoară prin filtrare glomerulară și prin excreție tubulară, este dependentă de intensitatea expunerii și de concentrația sa în sînge. Peste un anumit nivel de ingerare, nivelul de excreție îl egalează pe cel de ingestie, retenția sa în țesuturi, fiind redusă. La om, limita inferioară de siguranță este de 0,2—2,0 mg Pb/zilnic. Majoritatea Pb inhalat se elimină pe cale urinară, utilizată în cazurile în care în circulație există cantități mici ; prezenaț în circulație a unui exces de plumb duce la utilizarea căii biliare de eliminare. Acidul ascorbic, citratul de sodiu și Ca—EDTA sau Na_2—EDTA măresc eliminarea urinară a Pb, din care cauză ultimele două sînt utilizate ca antidot în intoxicația cu Pb.

4.3.3. Toxicitate

Din datele cunoscute pînă în prezent, se pare că plumbul nu ar prezenta, în cantități mici, nici o funcție esențială pentru plante, animale și micro-organisme.

Toxicitatea cronică a plumbului, cunoscută sub denumirea de s a t u r n i s m din cele mai vechi timpuri, este caracterizată prin : anemie, tulburări neurologice (ataxie, convulsii, comă), leziuni renale (nefropatie cronică, sindrom Fanconi), creșterea de peste cinci ori a excreției urinare a acidului Δ-aminolevulinic (ALA) și a conținutului Pb în sînge (p l o m b e m i e) > 80 μg/100 ml).

Plumbul inhibă prin blocaj grupările tiolice ale unor sisteme enzimatice, în special, acelea care produc sinteza hemoglobinei și provoacă anemia hipocromă.

Pb inactivează enzime ca urmare a deplasării biometalelor componente ale metaloenzimelor sau enzimelor activate de către metale, datorită afinității lui mari față de liganzi cu grupări aminice, carboxilice, inclusiv cele ale aminoacizilor (lizina, acid glutamic, acid aspartic, grupările fenoxi ale tirozinei, imidazolului etc.).

Astfel unele adenosin-trifosfataze sînt sensibile la mici concentrații de plumb, care inhibă puternic și dehidrogenaza—lipoamidică, enzimă cu importanță deosebită în oxidarea celulară. De asemenea,

incorporarea ^{14}C-leucinei la Escherichia coli la acidul ribonucleic de transfer t-ARN, este inhibată de către plumb, care poate, astfel, afecta sinteza de proteine.

Plumbul inhibă și creșterea Rhodopseudomonas spheroides alterînd sinteza tetrapirolului la acest microorganism, prin formarea unui complex metal-ion.

Legătura plumbului cu constituienții subcelulari specifici, a metalotioneinei și ARN-ului hepatic la expunerea la plumb și concentrațiile plumbului tisular în organismul uman, într-un mediu în continuă industrializare și contaminare, nu este pe deplin elucidată.

BIBLIOGRAFIE

4, 19, 36, 49, 62, 82, 85, 103, 106, 109, 142, 195, 230, 347 a, 338, 354, 343, 360, 369, 370, 378.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

5

METALOENZIME

5.1. Generalităţi

Enzimele, compuşi biologici macromoleculari, cu proprietăţi catalitice, produse exclusiv de celulele vii, sînt holoproteine cu structuri tridimensionale specifice, alcătuite numai din lanţuri polipeptidice, de aminoacizi sau heteroproteide, care conţin, pe lîngă componenta proteică, termolabilă, nedializabilă, cu proprietăţi fizico-chimice specifice proteinelor, denumită *apoenzimă* şi o componentă neproteică, termostabilă, cu masă moleculară mică şi dializabilă, denumită *cofactor enzimatic*. În funcţie de tăria legăturii dintre cele două componente, cofactorii enzimatici, se împart în :

— *grupări prostetice*, substanţe de natură organică puternic fixate de molecula apoenzimei, fără a putea fi separate de aceasta ;

— *coenzime*, substanţe de natură organică, slab legate de apoenzimă, de care se poate separa uşor, asociindu-se, după reacţie, de altă apoenzimă ;

— *activatori*, substanţe nespecifice, ioni metalici, agenţi reducători etc., care facilitează trecerea enzimei dintr-o stare inactivă (zimogen), într-o stare catalitic activă sau participă la stabilizarea şi formarea structurilor terţiare şi cuaternare ale moleculelor componente ale enzimelor.

O delimitare strictă între coenzime şi grupări prostetice pe de o parte şi între cofactori şi substraturi, pe de altă parte, este în multe cazuri greu de făcut.

Enzimele prezintă specificitate de acţiune, de substrat şi stereochimică.

Activitatea catalitică a enzimelor este limitată la o regiune mică a componentei proteice, numită *centru activ* sau *situs catalitic activ*. Centrul activ al enzimelor, alcătuite numai din aminoacizi, este format din resturi de aminoacizi, aranjaţi într-o configuraţie care să corespundă steric cu structura chimică a substratului ; ei pot fi situaţi în poziţii diferite ale catenei polipeptidice, dar sînt grupaţi geometric

pe o suprafață cu un diametru de aproximativ 15—20 Å, în urma unui proces de „pliere" a macromoleculei proteice.

Centrul activ al enzimelor formate din două componente cuprinde și gruparea prostetică, care are un rol important în legarea substratului și participă efectiv la mecanismul catalizei enzimatice.

Numărul și structura centrilor activi este dependent de natura enzimei, activitatea catalitică optimă, fiind limitată, într-un domeniu restrîns de pH, denumit pH optim de acțiune.

Se pare că situsul catalitic activ este înconjurat de grupări nepolare care-i asigură un mediu adecvat cu o constantă dielectrică inferioară celui apos în care se găsește enzima.

Numeroase enzime conțin în situsul lor activ ioni metalici sau necesită prezența ionilor metalici pentru trecerea enzimei din starea de zimogen, inactivă, în stare catalitic activă.

Enzimele în care ionii metalici sînt puternic încorporați și legați stoechiometric în structura lor, fără a putea fi eliminați în procesul de purificare al enzimei, se numesc *metaloenzime*; prin îndepărtarea lor, proteina își pierde capacitatea de a funcționa ca o enzimă. Se cunosc și enzimele în care ionul metalic este slab asociat cu proteina, dar este esențial pentru activitatea lor. Astfel de complecși metal-enzimă, ușor disociabile sau enzime care necesită un ion metalic exogen pentru a stimula la maximum activitatea sa catalitică, se numesc *enzime activate de ioni metalici.*

Diferența dintre metaloenzime cu ionul metalic inclus structural și enzime activate de ioni metalici, la care ionul metalic trebuie adăugat pentru activare, (ele prezentînd o afinitate relativ redusă față de ionul metalic), este de natură cantitativă.

Dacă notăm cu E enzima, cu Me ionul metalic și cu S substratul (ligandul), formarea complexului EMeS are loc, pentru ambele clase de enzime, conform ecuației:

$$E + Me \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} EMe \overset{+S}{\rightleftarrows} EMeS$$

Metaloenzimele sînt complet nedisociate, $k_2=0$, în timp ce enzimele activate de metale au k_2 măsurabil, din care cauză, ele necesită adăugarea ionului metalic pentru înregistrarea unei activități maxime.

Echilibrul reacției de formare a complexului EMeS poate fi influențat de variația pH-ului sau de prezența unor agenți de chelatare puternici, care fixînd ionul metalic din complexul EMeS, duce la inactivarea enzimei.

Metaloenzimele se deosebesc, după Valle, (329) de enzimele activate de ioni metalici prin următoarele criterii, sistetizate în tabelul 15.

Tabelul 15

Criterii de diferențiere a metaloenzimelor de enzimele activate de ionii metalici (329)

Parametru	Metaloenzimă	Enzimă activată de ioni metalici
Legarea ionului metalic de proteină	Puternic, ireversibil și inseparabil prin dializă	Slab, ușor reversibil, separabil prin dializă
Constantă de stabilitate	Mare (10^7 — 10^8 M^{11})	Mică
Constantă de disociere	Virtual zero	Măsurabilă
Raport specific Me/apoenzimă	Constant și mic	Variabil
Raport specific Me/cofactor	Constant	Variabil
Raport specific Me/activitate specifică	Constant	Variabil
Specificitatea pentru ioni metalici	Foarte mare	Ionii analogi se pot substitui
Natura ionilor metalelor implicate	Metale tranziționale de tip d, seria I și Mo, seria II-a Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}	Virtual orice metal
Efectul conținutului de metal asupra activității [S], [E] la pH constant	Proporționalitate directă	Cinetică Michaelis-Menten-modificată
Activitate în absența ionului metalic	Nulă	Scăzută

5.2. Rolul ionilor în sistemele metal-proteine

Mecanismul de acțiune al unei enzime implică, după Mildvan (219), cunoașterea :

— structurii electronice și spațiale a situsului activ al enzimei și a complecșilor ei cu substratul ;

— afinitatea și specificitatea substratului ;

— cinetica reacțiilor catalizate de enzime ;

— mecanismul de reacție pe etape, natura și structura complecșilor intermediari, a stărilor de tranziție, rearanjarea electronilor și a atomilor enzimei și substratului ;

— valoarea constantelor de disociere, de stabilitate, instabilitate etc. ale complecșilor formați.

Utilizarea asociată a metodelor fizico-chimice actuale de investigație ale chimiei coordinative a lărgit și aprofundat mult cîmpul cunoașterii acestor mecanisme. În ceea ce privește implicațiile ionilor metalici în mecanismul catalitic al metaloenzimelor și enzimelor activate de ioni metalici și corelarea lui cu afinitatea lor pentru apoenzime, este

mai puțin cunoscut. Enzimele cu specificitate ridicată pentru ioni metalici pot funcționa, în prezența acestora, ca metaloenzime sau ca sisteme activate de ioni metalici, în prezența cationilor cu afinitate mult mai redusă față de enzimă, deci mai slab legați.

Modificarea pH-ului poate produce schimbări însemnate în afinitatea unui ion metalic dat, fiind însoțită uneori (β-metilaspartaza), de o trecere de la o metaloenzimă, caracterizată printr-o constantă de stabilitate mare, de ordinul a 10^7—10^8 M^{-1}, la o enzimă activată de ioni metalici, cu constantă de stabilitate mult inferioară.

Interacțiunile dintre ionul metalic și proteină, în metalo-proteine și enzime sînt reciproce. Prezența ionului metalic poate influența configurația electronică și spațială a proteinei, iar proteina poate impune stereochimii neobișnuite ionului metalic ambele afectînd reactivitatea enzimei. Astfel, enzima poate utiliza proprietățile electronice speciale ale ionilor metalici, prin legarea lor de lanțul proteic cu formarea și ducerea acestor chelați, într-o stare specifică distorsionată (tensionată), *stare entatică* (de la enteion = a încorda, a constrînge), datorită simetriei deosebite a micromediului în care se găsește ionul metalic, care micșorează energia stărilor de tranziție și facilitează astfel reacția ionului metalic cu substratul.

Ionii metalici componenți ai metaloezimelor sînt ioni ai metalelor reprezentative ca cei alcalini : Na^+, K^+ și alcalinopămîntoși Mg^{2+}, Ca^{2+}, diamagnetici, cu configurație de octet, precum și ioni ai metalelor tranziționale de tip d, seria I : Mn^{2+}, Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} și din seria II-a : Mo (V, VI) ioni cu configurație incompletă, paramagnetici, exceptînd Zn^{2+}, diamagnetic, cu configurație de 18 electroni.

În general, ionii metalici pot afecta funcția catalitică a metaloenzimei prin :

a) legarea substratului, a cofactorului enzimatic sau a ambelor;

b) activarea complexului enzimă-substrat (CES) format;

c) menținerea conformației caracteristice a apoenzimei;

d) modificarea conformației enzimei în scopul înlesnirii modului ei de a reacționa;

e) participarea nemijlocită a ionilor metalici la reacții redox în cadrul reacțiilor enzimatice sau comportarea lor ca acizi Lewis (p. 14).

Numărul ionilor metalici la un mol apoenzimă variază în limite largi de la 1—2 la 4—6 sau chiar și mai mult. Așa de exemplu, ceruloplasmina și feredoxina conțin 8 atomi de cupru, respectiv de fier/mol proteină. Unele enzime ca : xantinoxidaza conțin doi ioni metalici diferiți Fe(II) și Mo(V, VI).

Nu este exclusă existența unor noi metaloenzime, conținînd V, Sn, Cr, Se și chiar a unor noi compuși sau sisteme de enzime cu fluor și siliciu.

Exceptînd metaloenzimele, multe enzime sînt activate de către ioni metalici. Aşa de exemplu, Zn(II) catalizează activitatea : alanil şi leucilglicindipeptidaza, arginaza, aminopeptidaze, carnosinaza, dehidropeptidaza, depeptidaza, enolaza, lecitinaza, histidindiaminaza, oxalodecarboxilaza etc.; Mn(II) catalizează activitatea : arginazei, polimerazei, galactotransferazei, fosfoenolpiruvat carboxilazei ; Cr(III) pe cea a fosfoglucomutazei etc.

Enzimele activate de ioni metalici prezintă o specificitate inferioară pentru ionii metalici comparativ cu metaloenzimele ; sînt uşor inhibate prin adăugarea altor ioni sau substanţe. Specificitatea ionilor metalici în enzimele activate de aceştia, a fost cercetată prin extinderea activării, utilizînd diferiţi ioni metalici în condiţii standard, sau măsurînd vitezele şi constantele activatorului.

În general, majoritatea kinazelor şi sintetazelor sînt activate într-o măsură semnificativă de către ionii de Mg^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+} şi uneori de Ca^{2+}, în timp ce dehidrogenazele şi liazele, în majoritatea cazurilor, prezintă specificitate mai largă pentru activare cu ionii Me^{2+}.

După Cohn, (59 a) enzimele care formează complecşi de tipul Me—S—E, de exemplu creatinkinaza, sînt activate de ionii Ca^{2+}, în timp ce enzimele care formează complecşi ternari de tipul S—Me—E cu ionul Ca^{2+}, el acţionînd ca un inhibitor.

Ionul metalic component al unor metaloenzime poate fi înlocuit în unele cazuri, fără ca activitatea ei să se micşoreze, prin izotopul său radioactiv sau prin alt ion metalic, cu acelaşi număr de oxidare. În alte cazuri activitatea este modificată.

În astfel de înlocuiri, există posibilitatea ca noul ion metalic să coordoneze şi alte grupări sau să favorizeze alte stereochimii, din care cauză este necesară evaluarea cantitativă a unor astfel de interacţiuni, prin unii parametri cantitativi, cum ar fi constanta de stabilitate sau de instabilitate etc.

Aşa de exemplu, Zn(II) din carboxipeptidaza (EC 3.4.2.1), enzima care catalizează hidroliza legăturilor peptidice C-terminale din proteine şi peptide şi cu predilecţie, pe cele cu catene laterale hidrofobe, sau ciclurile aromatice ale resturilor moleculelor de fenilalanină, triptofan sau leucină, cu log K, la pH 8,0 de 8,3, poate fi înlocuit cu ionii Co(II), Ni(II), Mn(II), Cu(II), Cd(II) şi Hg(II), cu următoarele valori ale log K, la pH 8 : 5,8 ; 5,7 ; 5,6 ; 5,1 ; 7,9 ; 6,7.

Viteza de disociere a carboxipeptidazei cu Co(II) este superioară enzimei cu Zn(II), iar viteza de disociere a carboxipeptidazei cu Zn(II) este de 10^4—10^5 ori mai rapidă decît aceea a anhidrazei carbonice (EC. 4.2.2.1), enzimă nativă, care conţine un atom de zinc/mol proteină.

Activitatea peptidazică şi esterazică relativă a unor metalo-carboxipeptidaze este diferită în funcţie de natura ionului metalic.

Ionul Mn(II) înlocuiește Mg(II), în ATP-aze, în timp ce Cd(II), Ni(II) și Co(II), o inhibă. La fel, Mg(II) care activează metionil-t-ARN-sintetaza, poate fi înlocuit cu Mn(II), Ni(II) și Co(II), iar Zn(II) din dehidrogenază de către Co(II).

În anhidraza carbonică, (EC 4.2.1.1) metaloenzimă, care catalizează reacția reversibilă de hidratare a CO_2 și manifestă și o acțiune esteriazică, conține ionul Zn(II), constituent al situsului catalitic. El este așezat într-o cavitate formată de molecula enzimei prin plierea catenei polipeptidice și formează, cu trei atomi proveniți de la 2 resturi de histidină și unul de metionină din molecula enzimei, un complex chelat tetraedric. Cea de a patra legătură, orientată în direcția cavității, este liberă, neocupată, în starea nativă a enzimei și participă la formarea complexului enzimă-substrat, îndeplinind rolul unui catalizator electrofil.

În soluție ionul Zn(II) din anhidraza carbonică nu poate fi schimbat cu alți ioni metalici. Folosind agenți de chelatare (1,10 fenantrolina, acidul 8-hidroxichinoleinsulfonic, EDTA) la pH 5—6, Zn(II) poate fi înlocuit cu alți ioni metalici, constantele de stabilitate (log K la pH 5,5) ale unor metalocarbonic-anhidraze depind de natura ionului metalic, după cum urmează : Mn(II) 3,8 ; Co(II) 7,2 ; Ni(II) 9,5 ; Cu(II) 11,6 ; Zn(II) 10,5 ; Cd(II) 9,2 ; Hg(II) 21,5 (185). Astfel de substituiri sînt însoțite de modificarea absorbției luminii în spectrele electronice ale metaloenzimelor.

Înlocuirea ionului metalic din metaloenzime ca : fosfataza alcalină, carboxipeptidaza, anhidraza carbonică, alcooldehidrogenaza din ficat cu alți ioni metalici a fost făcută prin : a) prepararea apoenzimei și recombinarea ei ulterioară ; b) schimbul direct metal-metal în anumite condiții ; c) creșterea enzimelor microbiene într-un mediu cu concentrație crescută de ion metalic ce dorim a-l încorpora.

În enzime, ionii metalici pot avea rol catalitic sau rol structural. Așa, de exemplu, în alcooldehidrogenaza, doi ioni Zn(II) au rol structural și doi rol catalitic; agenții de chelatare (1,10—fenantrolina sau α, α dipiridilul) formează chelați numai cu ionii cu rol catalitic.

Separarea și amestecarea ulterioară a celor trei componente ale unei metaloenzime în cantități stoechiometrice, nu duce la refacerea activității catalitice, în timp ce enzimele activate de metale, la adăugarea ionului metalic duce la reactivitvarea enzimei. În cazul piruvat-decarboxilazei (EC. 4.1.1.1) liază- izolată din drojdia de bere, având o masă moleculară de aproximativ 175 000, cu 3—4 molecule de TPP și 3—4 ioni Mg^{2+} la un mol de apoenzimă, care catalizează reacția ireversibilă de decarboxilare a piruvatului cu formare de acetaldehidă, adăugarea la apoenzimă a TPP și a Mg^{2+} în exces, este însoțită de refacerea holoenzimei în 3—4 minute (72).

După Schellenberger, (282), viteza de recombinare cu refacerea holoenzimei, în funcție de natura ionilor metalici, crește în cazul piruvatdecarboxilazei, în ordinea $Mg < Co < Mn < Ca$, cu toate că activitatea enzimatică nu depinde de natura ionului metalic, el determină stabilitatea holoenzimei. Așa de exemplu, deși Co-enzima și Mg-enzima au aceeași activitate catalitică, primul disociază ușor, în timp ce complexul Mg-enzimă este stabil (281).

După același cercetător, (280) cele două trepte inițiale ale recombinării, adiția TPP-și adiția de Mg^{2+} la situsul activ al apoenzimei, nu se influențează reciproc, deși ionii Mg^{2+} sînt necesari pentru formarea unei legături stabile între apoenzimă și TPP, acțiunea Mg^{2+} asupra apoenzimei avînd loc numai în prezența TPP.

Schematic, reconstituirea holoenzimei din apoenzimă, TPP și Mg^{2+} este indicată în cazul piruvat decarboxilazei în fig. 5.1.

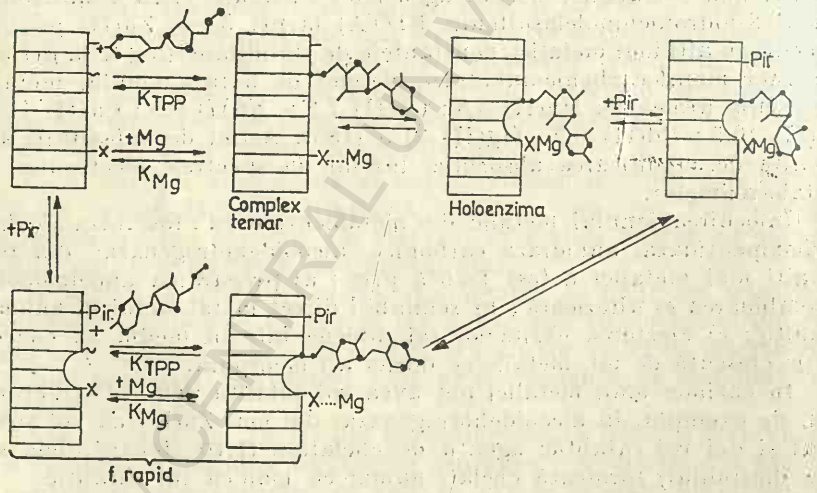


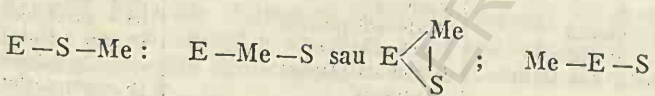
Fig. 5.1. — Mecanismul de recombinare al piruvatdecarboxilazei în prezența și în absența substratului; X=situsul de legare al restului pirofosfat din molecula de TPP; Pir=piruvatul, substratul natural al enzimei [280]

5.3. Scheme de coordinare ale enzimelor, metalelor și substraturilor

Enzimele, activate de ioni metalici necesită adăugarea ionilor pentru activitatea lor optimă. Afinitatea ionului metalic pentru enzimă cu formarea complexului activ enzimă-metal, (E —M,) sau viteza

de disociere și constanta de stabilitate ale acestuia constituie parametrii majori ai diferenței enzimelor activate de ioni metalici, de metaloenzime. Există însă cazuri limită în care ionii metalici activatori sînt reținuți numai parțial în procesul de purificare al enzimei, În astfel de cazuri, activitatea reziduală a enzimei crește la adăugarea ionului metalic, parțial îndepărtat. Utilizarea ulterioară a substanțelor chelatoformatoare la purificare, în continuare a acestora, este însoțită de o reducere la un minimum a activităților reziduale; se poate stabili astfel o dependență absolută a enzimei de ionul metalic adăugat (127).

Raportul enzimă-ion metalic-substrat în complecși ternari ai enzimelor activate de ioni metalici, este de obicei stoechiometric, 1 : 1 : 1. În astfel de cazuri sînt posibile următoarele scheme de coordinare :



(I) (II) (III)

avînd ca punte în cele trei componente : substratul (I), ionul metalic, legat de enzimă și substrat linear sau ciclic (II) sau enzima (III). Metaloenzimele nu formează complecși avînd ca punte substratul (I).

Schemele de coordinare în interacțiunile enzimă, ion metalic, substrat cît și tipurile de complecși ternari pot fi urmărite în fig. 5.2 (301) și în tabelul 16.

Enzimele care formează complecși de tipul E—Me—S nu leagă strîns sau specific ionul metalic, în absența substratului (ligandului) format, de obicei, din di-și trifosfonucleotide cu afinitate foarte mare pentru ionii metalici (K <1mM) (p. 16).

La enzimele de tipul E—S—Me, care formează complecși cu ionul metalic în punte, substratul nu este specific legat în absența ionului metalic, cu excepția celor ciclice de tipul E<Me/S, în care legătura

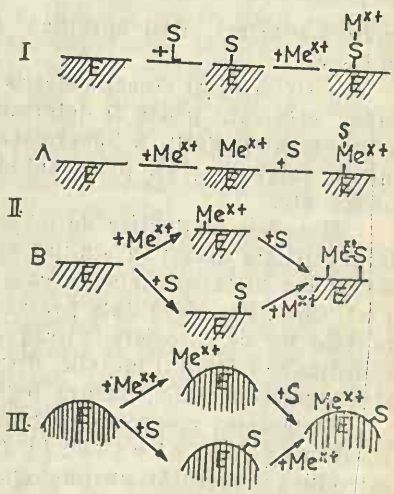


Fig. 5.2. — Schema de coordinare a interacțiunilor enzimă (E), ion metalic (Me**) și substrat (S), [301]

Tabelul 16

Scheme de coordinare ale enzimei, metalului și substratului în complecși ternari (220)

Complecși ternari având ca punte		
A. Substratul E—S—Me Tip I($\varepsilon_b < \varepsilon_T$)	B. Metalul E—Me—S sau E(Me, S) Tip II ($\varepsilon_b > \varepsilon_T$)	C. Enzime S—E—Me Tip III ($\varepsilon_b \simeq \varepsilon_T$)
Creatin kinaza (creier sau mușchi) Aldolaza (drojdie) (S = fructoz difosfatul) Arginin kinaza 3 Fosfoglicerilkinaza Hexokianoza (drojdie) Triptofan ARN sintetiaza (S = ATP) Valin ARN sintetaza (S = ATP) Tetrahidrofolat sintetaza	Aldolaza (drojdie) (S = gliceraldehid — 3 — P) Carboxipeptidaza Enolaza Fosfoenol piruvat carboxikinaza Fosfoenol piruvat sintetaza Fosfoglucomutaza Histidin deaminaza Piruvatkinaza (mușchi, drojdie) Pirofosfataza anorganică D Xilo-izomeraza	Citratliaza Dopamin hidroxilaza Triptofan ARN sintetaza (S = pirofosfat) Uridin difosfat glucoza pirofosforilaza (S = pirofosfat) Valin ARN sintetaza (S = pirofosfat)

enzimă-substrat, deși specifică, este mai puternică în prezența ionului metalic.

Activitatea și stoechiometria complecșilor ternari enzimă, ion metalic, substrat, poate fi determinată cu ajutorul dializei de echilibru, a ultracentrifugării, a spectroscopiei de absorbție în UV, a dispersiei optice rotatorii (14), prin metode de fluorescență, cromotografice, cinetice etc.

Metodele magnetice de investigație, RMN, RES, RPM, PRR, sînt larg utilizate astăzi în studiul complecșilor binari sau ternari ai enzimelor sau metaloproteinelor care conțin ioni paramegnetici, Me^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Cu^{2+}. Ele oferă date prețioase privitoare la stoechiometria și constantele lor de disociere, viteza de schimb a substratului din sfera de coordinare a ionului metalic, distanța dipolară între nucleii substratului și a ionului metalic, natura legăturilor formate etc.

Detectarea complecșilor binari și ternari poate fi făcută și cu ajutorul metodei creșterii, („enchancement technique") introdusă în cercetări enzimologice de către Cohn (59 a), bazată pe determinarea vitezei de relaxare a protonilor apei. Din acest punct de vedere, complecșii binari și ternari ai enzimelor pot avea o comportare de tip I cînd creșterea complexului ternar (ε_T) este superioară celui binar ε_b,

adică $\varepsilon_b < \varepsilon_T$, comportare de tip II cînd creșterea complexului ternar este inferioară celui binar, adică $\varepsilon_b > \varepsilon_T$, și comportare de tip III, cînd $\varepsilon_b \approx \varepsilon_T$; (22).

În general, complecșii cu substratul în punte (E—S—Me) sînt de tipul I, cei cu ionul metalic în punte (E—Me—S) de tipul II, iar cei cu enzime în punte (Me—E—S) de tipul III.

Efectul produs de ionul metalic paramagnetic legat în enzimă asupra vitezei de relaxare a nucleilor substratului este utilizat la studiul în soluție a complecșilor enzimă—metal—substrat.

Spectroscopia IR a fost utilizată în studiul complexului Zn-carbonic-anhidraza în care CO_2 nu este coordinat direct la Zn^{2+}, iar cristalografia cu raze X la determinarea structurii totale a multor complecși ternari, enzime, ion metalic, substrat sau inhibitor.

În general, kinazele formează complecși ternari cu substratul în punte E—S—Me cu excepția unora și altor enzime fosfotransferazice care catalizează reacțiile fosfoenolpiruvatului, formînd complecși cu enzime în punte, Me—E—S.

Cunoașterea rolului funcțional al ionilor metalici componenți structural—metaloenzimei, s-a făcut și prin utilizarea unor substanțe chelatoformatoare, care pot reacționa cu ionul metalic după schemele :

$$[EMe] + nI \rightleftarrows [EMe]I_n \quad (1) \text{ și } EMe + nI \rightleftarrows E + MeI_n \quad (2)$$

Inhibarea activității catalitice a ionului metalic are loc prin formarea unor combinații complexe coordinative $[EMe]I_n$ sau a unui complex chelat MeI_n cu constantă de stabilitate superioară sau constantă de instabilitate inferioară complexului EMe, puși în evidență spectral, prin determinarea dispersiei rotatorii optice sau a proprietăților magnetice.

Deoarece agentul de complexare poate interacționa și cu alte grupări chimice ale proteinei, cu substratul sau cu alt cofactor prezent, interpretarea efectului inhibitor al substanțelor chelatoformatoare asupra activității enzimelor trebuie făcută cu mult discernămînt.

Dintre substanțele complexoformatoare, acidul etilendiaminotetraacetic (EDTA), 1,10-fenantrolina, N-nitrozofenilhidroxilamina sau cupferona, α, α dipiridulul etc. sînt mai frecvent utilizate.

Deoarece accesul agentului de chelatizare la ionul metalic, poate fi în unele cazuri împiedicat, iar unele situsuri de coordinare ale ionului metalic pot fi ocupate cu liganzi ai proteinei, stabilirea numărului legăturilor metal-proteină este destul de dificilă.

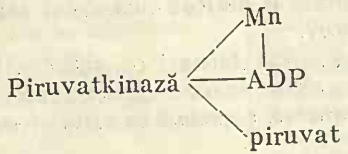
Ionii CN^-, N_3^-, SO_3^{2-}, CO etc. sînt inhibitori ai enzimelor care conțin Fe, Cu și Zn.

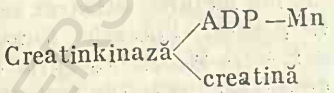
Inhibitorii metaloenzimelor trebuie să fie activi în concentrații foarte mici, să prezinte specificitate pentru ionul metalic și să nu interacționeze cu resturi laterale ale aminoacizilor apoenzimei, să acționeze

la un pH optim al reacției enzimatice, fără a afecta alte componente ale sistemului catalitic (72).

Deoarece majoritatea reacțiilor enzimatice implică existența a două substraturi, este posibilă și formarea unor complecși cuaternari de tipul $EMeS_1S_2$, în care unul din substraturi (S_2) poate forma complecși, după toate schemele indicate anterior.

Utilizînd viteza de relaxare a protonului apei, Mildvan și col. (220) și Sullivan și Cohn (317 a) au studiat modul de cuplare a piruvat kinazei și creatinkinazei în formarea unui complex cuaternar enzimă, metal, substrat, cu următoarele scheme posibile de coordinare :

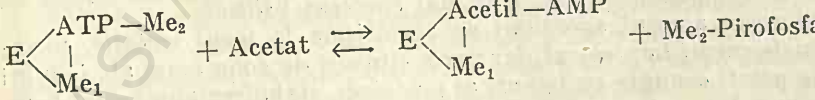


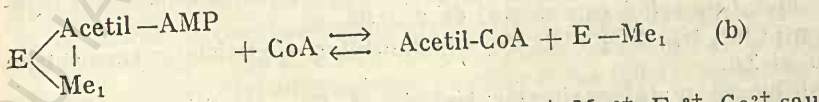


Ele indică formarea unui complex cu punte de metal și piruvat kinaza și ADP ca substrat și un complex cu punte de substrat (ADP) în cazul creatinkinazei. Produșii piruvat și creatina formează în aceste cazuri complecși cu punte de enzimă în raport cu Mn(II).

Utilizînd metoda de relaxare a protonilor s-a detectat, în cazul formiltetrahidrofolat sintetazei, enzimă trisubstrat, un complex activ cuaternar (E —ATP —Mn, tetrahidrofolat) și un complex cuaternar incomplet (E —ADP —Mn, tetrahidrofolat).

Nucleotid polifosfații pot coordina mai mulți ioni metalici și pot forma complecși E —Me —substrat, care conțin doi ioni metalici, de tipul $E\begin{matrix}Me\\|\\S-Me\end{matrix}$. După Webster (340) în cazul acetil-CoA-sintetazei, un astfel de complex cu doi cationi bivalenți, Me_1 și Me_2 se poate forma, după schema :

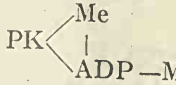
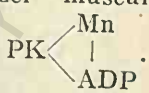




în care $Me_1 = Fe^{2+}$, Co^{2+}, Ni^{2+}, iar $Me_2 = Mg^{2+}$, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Co^{2+} sau Ca^{2+}.

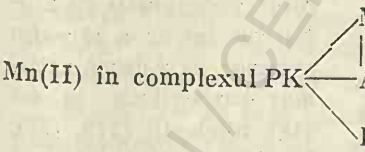
Ambele etape de formare necesită prezența unui cation monovalent care stabilizează acetil derivatul legat de enzimă. Astfel de complecși

cu doi ioni metalici au fost detectați și în cazul cuplării fosfoenolpiruvat carboxikinazei, GDP, GTP cu ionul Mn^{2+}.

Un complex de tipul pare a funcționa în glutamin sintetază, iar un complex care ar conține 2 sau 3 ioni Ca^{2+} cuplați cu transglutaminaza ar cataliza hidroliza amidei. Este posibilă existența unui astfel de complex și în cazul piruvatkinazei musculare,  cu aceeași activitate enzimatică ca și a  .

5.3.1. Complecși de tipul Me—E—S cu enzima în punte

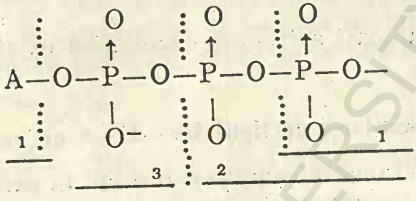
Rolul ionilor metalici în complecși ternari, în care enzima formează puntea, este mai puțin cunoscut; se pare că el ar fi de ordin structural și ar contribui la stabilizarea conformației catalitice active a proteinei, acțiune analoagă cu aceea a unor ioni monovalenți. Așa de exemplu, reactivitatea glutamin-sintetazei din Escherichia coli, inactivată de către EDTA, are loc în prezența ionilor Ca^{2+}, Mg^{2+} sau Mn^{2+}, dar nu și în cazul Co^{2+}. Legarea ionului metalic în procesul de preincubare este urmat de o modificare lentă de ordinul I a conformației proteinei, la o structură mai compactă și mai simetrică.

Rolul ionilor metalici bivalenți, la complecși Me—E—S, nu este numai de ordin structural; ei pot funcționa ca punte în complecși de tipul , cu rol de activare al substratului S_1; așa se comportă Mn(II) în complexul  (221).

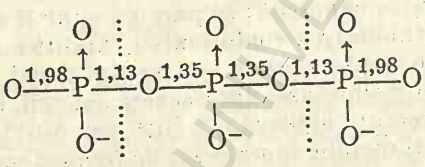
5.3.2. Complecși de tipul E—S—Me, cu substratul în punte

În astfel de complecși, ionul metalic este coordinat numai la substrat și nu interacționează direct cu enzima, care prezintă o afinitate semnificativă pentru ionul metalic numai în prezența substratului. Ei se întîlnesc la complecșii ternari ai di și trifosfatnucleozidelor, ionul metalic avînd rol de activare a grupărilor fosfat.

Molecula ATP poate fi scindată în diferite părți, cel puțin patru fragmente putînd fi transferate altor molecule acceptoare (5—I). Scindarea (1) implică transferul grupei terminale fosfat și are loc în prezența fosfotransferazelor sau kinazelor (EC 2.7.1) ; scindarea (2) implică transferul grupării pirofosfat, catalizată de pirofosfotransferaze sau pirofosfokinaze (EC 2.7.6), iar scindarea (3), transferul acidului adenilic cu eliberare de pirofosfat, reacție catalizată de nucleotidiltransferaza (EC 2.7.7).



(5—I)

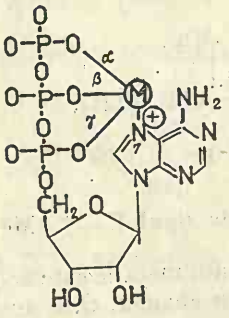


(5—II)

Lungimea legăturilor P—O în tripolifosfatul (trifosfatul) de sodiu determinată cristalografic de către Pauling (246) poate fi urmărită în (5—II).

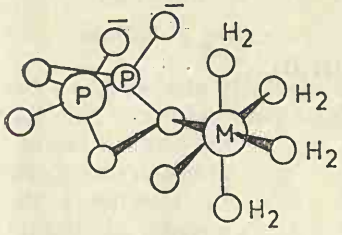
Se observă o inegalitate în lungimea legăturilor P—O—P—O—P— din punte, mai lungi, deci mai slab legate la atomii de fosfor din exterior față de cel central. De altfel, cercetări de RMN indică o ecranare electronică mai mare a atomului ß central al fosforului, comparativ cu atomii de fosfor α și γ din exterior, care devin astfel mai susceptibili, la un atac nucleofil (219, 72). Ionii Mn^{2+}, Zn^{2+} și Ca^{2+} micșorează slab (2 ppm) ecranarea atomilor de fosfor ß și γ, ceea ce explică creșterea susceptibilității lor la atacul nucleofil (5—III).

METAL	COORDINARE
Mg^{2+}	ß, γ, (N^7)
Mn^{2+}	α, ß, γ, N^7
Zn^{2+}	ß, γ, N^7
Co^{2+}	α, ß, γ, N^7
Cu^{2+}	ß, γ, N^7

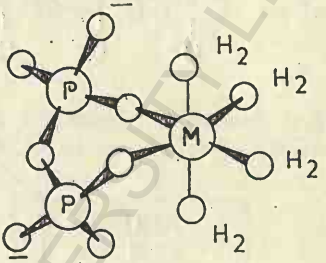


(5—III)

În soluție, complecșii binari ai ATP și ADP cu ionii metalici au o structură chelatică (5—III), coordinarea avînd loc prin intermediul atomilor de oxigen ai grupărilor fosfat și atomul de N_7 ai adeninei. Coordinarea în soluție cu formarea unui hexaciclu care să includă numai grupările pirofosfat și ioni metalici, nu este cunoscută.



(5.IV. a.)



(5·IV. b.)

Cercetări cristalografice au arătat că complecșii chelați hexaciclic pirofosfat-metalici au o structură tip baie (5—IV b) și nu tip scaun (5—IV a). Conformația scaun este rigidă, iar repulsiile electrice a celor doi oxigeni încărcați negativ ai pirofosfatului, îi micșorează stabilitatea (5—IV a).

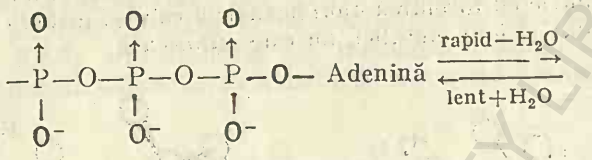
Conformația baie are o mare mobilitate internă, iar poziția în moleculă a celor doi oxigeni încărcați negativ micșorează la minimum repulsiile electrice ale acestora, contribuind astfel la o creștere a stabilității moleculei.

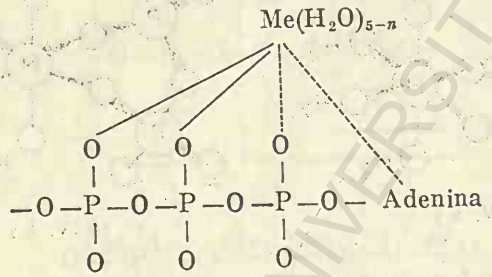
Cercetări cristalografice a complecșilor metalici ai acidului pirofosforic, indică configurația de tip baie a acestora. Orientarea predominant deplasată a celor doi oxigeni încărcați negativ, se întîlnește în cazul Cu^{2+}, Zn^{2+} și Na^{+}, iar o conformație de tip scaun se întîlnește la cationii cu raze ionice $\geqslant 1{,}0$ (Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Cd^{2+}).

Ionul Ca^{2+} cu rază ionică la limita acestor valori formează un complex pirofosfat tip scaun; el este un activator puternic al enzimelor, avînd substratul în punte, E—S—Me și nu și un inhibitor competitiv puternic al majorității enzimelor cu ionul metalic în punte, E—Me—S; Ionul Mg^{2+} care formează un complex pirofosfat stabil, activează ambele tipuri de enzime.

Mecanismul de formare al complecșilor metal-nucleotide presupune substituirea unor molecule de apă din ionul metalic hexahidratat, cu molecule de ligand; acest mecanism este indicat mai jos:

$$[Me(H_2O)_6]+ATP \underset{\text{rapid}}{\overset{\text{rapid}}{\rightleftharpoons}} Me(H_2O)_6\ ATP \underset{+H_2O}{\overset{-H_2O}{\rightleftharpoons}} (H_2O)_5\,Me-O-$$





În cazul reacției ADP^{2+} cu Mg^{2+} și probabil și cu Ca^{2+} și a ATP^{4-} cu ionii Ni^{2+}, Mg^{2+}, Co^{2+} și probabil Mn^{2+} și Ca^{2+}, viteza de reacție ar fi limitată la viteza de disociere a primei molecule de apă din hexa a CVO complex $[Me(H_2O)_6]^{2+}$.

Formarea complecșilor ternari E—S—Me ai trifosfatnucleazidelor are loc conform reacțiilor:

$$ATP^{4-} + [Me(H_2O)_6]^{2+} \rightleftarrows [ATP-Me(H_2O)_3]^{2-} + H_2O \quad (1)$$

$$E + [ATP-Me(H_2O)_3]^{2-} \rightleftarrows [E-ATP-Me(H_2O)_3] \quad (2)$$

În cazul unor concentrații ridicate ale enzimelor sînt posibile și reacțiile:

$$E + ATP^{4-} \rightleftarrows E + ATP \quad (3)$$

$$E-ATP + [Me(H_2O)_6]_3^{2+} \rightleftarrows [E-ATP-Me(H_2O)_3] + 3H_2O \quad (4)$$

În ceea ce privește mecanismul reacțiilor în complecșii avînd substratul în punte, datele sînt controversate (219, 301).

Pentru majoritatea kinazelor, transferul grupării fosforil implică formarea unui complex cuaternar de tipul $E\begin{matrix}ATP-Me\\ -S_2\end{matrix}$ în care S_2, acceptorul grupării fosforil nu intră în sfera de coordinare a ionului

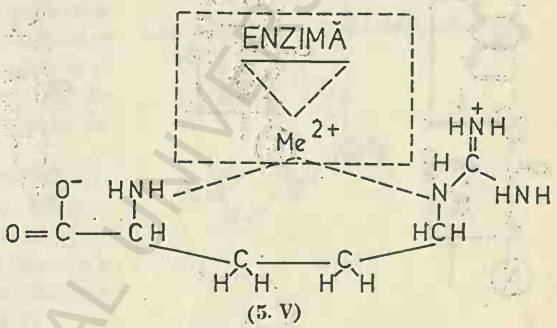
metalic, spre deosebire de gruparea fosforil transferată, care este o componentă a acesteia.

Rolul ionului metalic în complecșii E—S—Me ar consta în activarea atomului de fosfor, înlesnind astfel transferul grupării fosfat.

5.3.3. Complecși de tipul E—Me—S și E<Me/S cu ionul metalic în punte

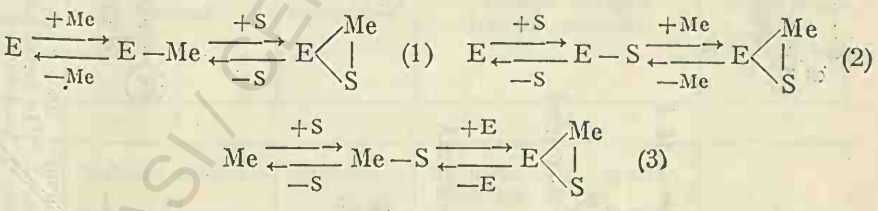
În cercetările sale efectuate asupra arginazei, Hellerman a admis, încă din 1937, existența unei legături cu ionul metalic în punte (5—V).

O primă dovadă experimentală privitoare la astfel de complecși cu ionul metalic în punte a fost adusă în cazul complexului ternar piruvat chinază — Mn — O_3PF (221). Ionul Mn^{2+} formează frecvent puntea de legătură între proteină și substrat. În fig. 5.3 sînt indicate structurile în soluție a unor astfel de enzime, determinate cu ajutorul metodelor magnetice de relaxare nucleară.



(5. V)

În cazul enzimelor activate de ioni metalici, formarea complecșilor cu ioni metalici în punte, poate avea loc, conform schemelor :



În funcție de valorile constantelor de viteză individuale și concentrația componentelor, E, Me, S, poate predomina una din cele trei căi indicate. Astfel, în cazul piruvatkinazei —Mn—O_3PF, predomină ecuația (1) de formare, fără a fi excluse și ecuațiile (2) și (3), în timp ce în cazul piruvatkinazei —Mn— fosfoenolpiruvat, căile 2 și 3.

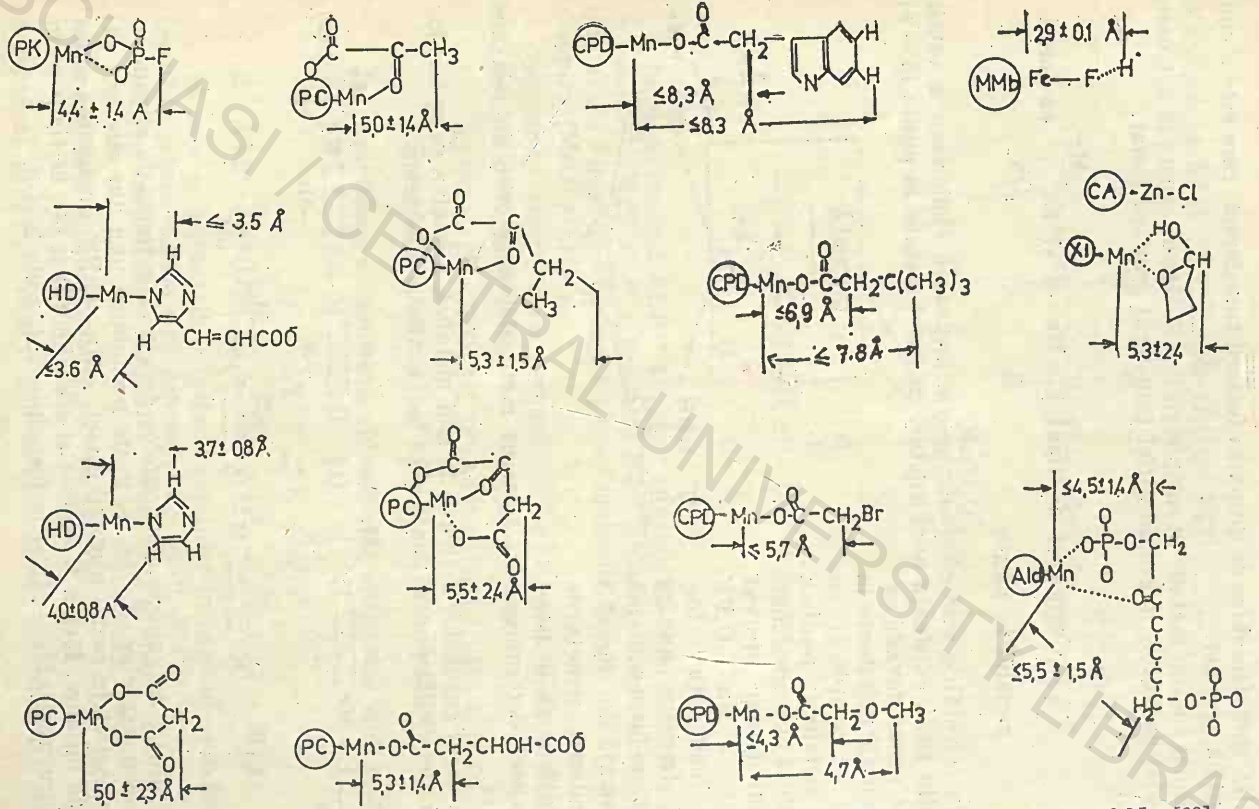


Fig. 5.3. — Structurile unor complecși E-Me-S, E-Me-I în soluție, determinate prin metoda R. M. N., [29]; PK=pirúvatkinaza; HD=histidindeaminaza; PC=piruvat carboxilaza; CPD=carboxipep tidaza; MMb=metmioglobina; CA=anhidraza carbonică (bovină); XI=d-xilozizomeraza; Ald=aldolaza (drojdie).

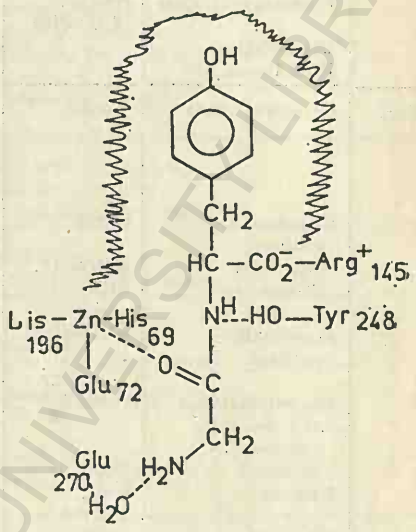
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Date cinetice indică formarea complexului ternar enzimă—Mn—xiloză, după ecuația (1), complexul Me—S având o stabilitate mică, iar complexul E—S nu s-a putut detecta.

În cazul în care, ionul metalic prezintă o afinitate mare pentru substrat, este posibilă și calea 3 de formare a complecșilor E—Me—S.

Carboxipeptidaza (EC 3.4.2.1) (5. VI), zinc enzimă cu masă moleculară de 34 000, care catalizează hidroliza legăturilor peptidice C-terminale din proteine și peptide, acționînd mai des asupra catenelor laterale hidrofobe sau a ciclurilor aromatice ale resturilor moleculelor de fenilalanină, triptofan sau leucină, constituie un exemplu tipic de complex ternar cu ionul metalic în punte.

Structura carboxipeptidazei A, care conține 300 resturi de aminoacizi a fost determinată cristalografic și interpretată de către Lipscomb (187). Metaloenzimele mai importante sînt redate în tabelul 17.



(5.VI)

Tabelul 1

Metaloenzime mai importante

Ion metalic	Enzimă	Prezentă în	Funcție biologică (reacție catalizată)	Constante fizico-chimice (Masă moleculară; Me/mol; λ max. în nm etc.)
1	2	3	4	5
Zn^{2+}	Carbonic anhidraza	eritrocite	Formarea CO_2; reglarea acidității	
	Carboxipeptidaza	pancreas	Digestia proteinelor	
	Alcool-dehidrogenaza	ficat	Metabolismul alcoolului	
	Lactic-dehidrogenaza		Lactat W piruvat	
	Malic-dehidrogenaza	inimă	malat W oxalacetat malat W piruvat fiicat)	

6

TRANSPORTUL OXIGENULUI

6.1. Generalităţi

Transportul oxigenului în organismele vii şi modul lui reversibil de legare de către transportorii naturali (hemoglobină, hemocianină) constituiesc procese fiziologice importante dar incomplet elucidate.

Transportorii de oxigen, conţin ioni ai elementelor tranziţionale care leagă oxigenul reversibil conform schemei:

$$\text{Transportor} + O_2 \rightleftarrows \text{Transportor } (O_2)$$

Modul de legare al oxigenului poate fi explicat cu ajutorul configuraţiei electronice a moleculei sale, formată din doi atomi cu cîte şase electroni de valenţă ($2s^2sp^4$), care ocupă cele opt orbitale moleculare de legătură şi antilegătură (fig. 6.1).

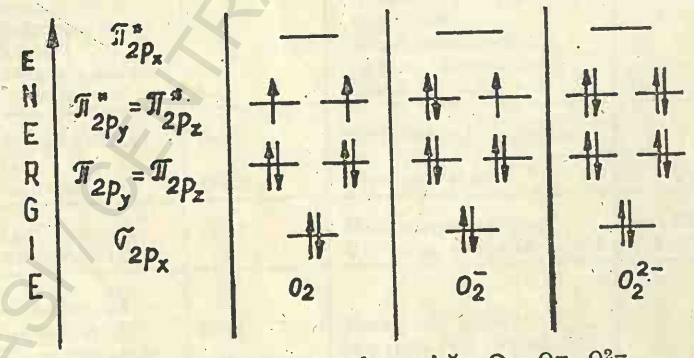


Fig. 6.1. — Configuraţia electronică a O_2, O_2^-, O_2^{2-}

Deoarece orbitalele π_2p_y şi π_2p_z sînt ocupate fiecare cu cîte un electron cu spin paralel, molecula de oxigen este paramegnetică cu structură de diradical, care explică reactivitatea sa chimică ridicată.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tendința oxigenului molecular de a cîștiga electroni este foarte mare, fiind după fluor, elementul cu cel mai accentuat caracter electronegativ. În reacțiile de oxidare el reacționează conform schemei:

$$O_2 \xrightarrow{+e^-} O_2^- \xrightarrow{+e^-} O_2^{2-} \xrightarrow{+2e^-} 2O^{2-}$$

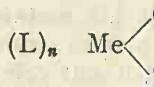
Structura și modul de legare a moleculei de oxigen în transportorii de oxigen nu a fost lămurită complet. După natura legăturii $Me-O_2$, aceste combinații sînt de tipul:

$(L)_n-Me-O-O-Me(L)_n$; $(L)_nMe(O_2)$; $(L)_nMe(O_2)Me(L)_n$

(6.I) (6.II) (6.III)

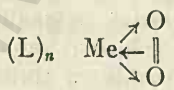
În cazul compușilor, (6. I) legăturile Me—O și —O—O— sînt legături π cu distanțe interatomice corespunzătoare compușilor peroxidici (6. II. a, 6. II b).

Compușii (6. II) pot fi formulați ca în 6. II a și b,



(6.II a)

și



(6.II b)

În combinațiile de tip (6. II a) legăturile sînt π de tip peroxidic iar în cei de tip (6. II b) de tip π (fig. 6.2; 6.3) (111).

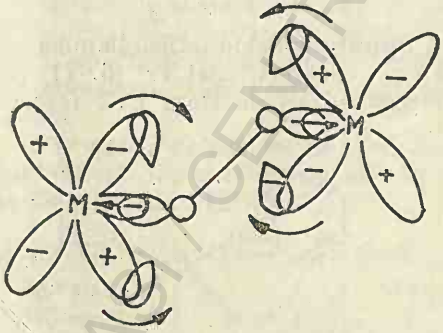


Fig. 6.2. — Legătura π a oxigenului cu cationul $[(NH_3)_5\text{-Co-O-O-Co}(NH_3)_5]^{4+}$

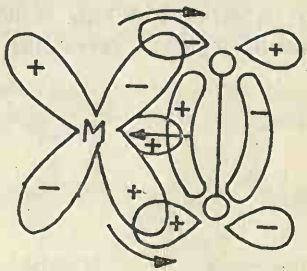


Fig. 6.3. — Legătura II oxigen-ion metalic

Se observă, că are loc un transfer de sarcină de la o orbitală π de legătură a oxigenului, la orbitele *d* libere ale ionului metalic, urmat de un transfer de electroni de la orbitalele *d* ocupate la o orbitală de anti-

legătură a moleculei de oxigen. Acest mod de transfer de electroni contribuie la micșorarea energiei legăturii : O ≡ O :, respectiv la creșterea distanței interatomice. Interacțiunile π care apar, depind de energiile relative și de gradul de acoperire al orbitalelor. Pentru combinațiile complexe de tip (6. III) natura legăturii metal-oxigen nu este elucidată.

Spectrele IR ale acestor combinații nu prezintă banda de absorbție caracteristică vibrației de valență υO—O. Acest tip de compuși sînt binucleari, iar fixarea oxigenului este reversibilă.

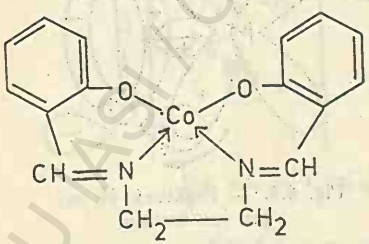
Din cauza complexității sistemelor biologice, pentru elucidarea structurii și a mecanismelor transportului oxigenului sînt utilizate modele mai simple ale unor compuși chimici, care imită aspecte și comportări ale sistemelor biologice.

6.2. Modele de compuși pentru fixarea oxigenului molecular

Se cunosc puține combinații complexe ale ionilor metalelor tranziționale, care fixează oxigenul reversibil, cele ale metalelor din grupa a VIII-a, fiind cele mai importante. Astfel printre primele combinații complexe menționate ca transportori de oxigen sînt cele ale ionilor de Co(II). Soluțiile apoase amonicale ale Co(II) se închid la culoare în prezența oxigenului din aer cu formarea unui compus binuclear, $[(NH_3)_5CoO_2Co(NH_3)_5]X_4$

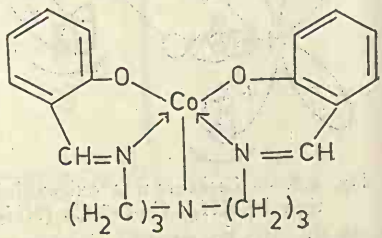
Dintre combinațiile complexe ale Co(II) transportori de oxigen menționăm pe cei care conțin ca liganzi baze Schiff, amoniac, aminoacizi, amine alifatice etc.

Complecși ai Co(III) (6. V) cu bis(salicilaldehid)-etilendiamina „Salen" și salicil aldehida condensată cu o triamină. „Sal Tr" (6. VI) (32), absorb oxigenul reversibil și formează aducți de tipul 1 : 2 respectiv 1 : 1.



I.

(6-V.)

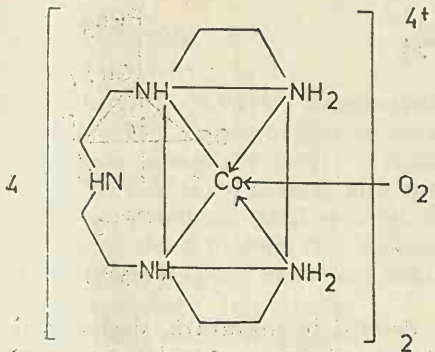


II

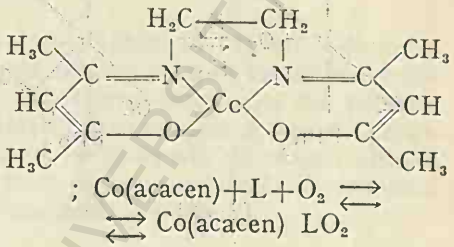
(6-VI.)

Crumblis și Basolo (58) au obținut transportori de oxigen cu acacenul, ($CH_3C(O^+)CHC(CH_3) = NCH_2^-$), de forma :

[(Co(acacen)(L)O_2], unde L = piridină și piridine substituite. Astfel de combinații au fost obținute prin tratarea complexului Co(acacen) care are structura (6. VII a), în mediu neapos în prezența piridinei sau a derivaților ei, conform reacției :



(6.VII)



; Co(acacen)+L+O_2 ⇌ ⇌ Co(acacen) LO_2

(6.VII. a.)

Natura lui L are rolul de a stabiliza legătura Co—O_2. Efectul de stabilizare pare să crească cu tăria bazică a lui L. Procesul de oxigenare și dezoxigenare poate fi repetat de mai multe ori, dar după mai multe cicluri, de absorbție, desorbție, combinațiile complexe devin transportori ireversibili — datorită probabil oxidării ionului metalic.

Transportorii de oxigen ai cobaltului (II), au fost formulați ca specii binucleare, care conțin gruparea superoxid O_2^- sau peroxid O_2^{2-}, în punte.

În compușii cobaltului de tipul acesta cu oxime, configurația fragmentului Co(O_2)Co în aducți poate fi reprezentat ca un hibrid de rezonanță între formele (6. VIII—6. XI).

Co(III)—O_2^{2-}—Co(III) ↔ Co(III)—O_2^-—Co(II) ↔ Co(II)—O_2^-—Co(III)

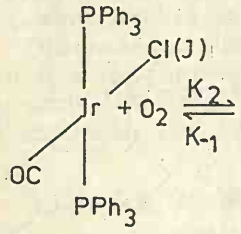
(6.VIII.) (6.IX.) (6.X.)

↔ Co(II)—O_2^0—Co(II)

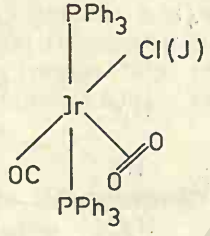
(6.XI.)

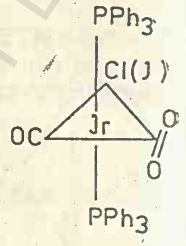
Structura (6. VIII) are cea mai mare contribuție la starea fundamentală, totuși sistemele care conțin cobaltul într-o stare de valență intermediară între II și III sînt cele mai reprezentative.

Unii complecși ai iridiului (III) de tip Vaska (330) au fost de asemenea utilizați ca modele în studiul transportului oxigenului. Astfel se pot menționa $[(Ph_3P)_2Ir(CO)Cl]$ (6. XII), respectiv $[(Ph_3P)_2IrCOI]$ (6. XIII) cu structură de bipiramidă trigonală conținînd oxigenul legat. Clorocomplexul se oxigenează reversibil în soluție, pe cînd iodocomplexul, ireversibil.



(6-XII)





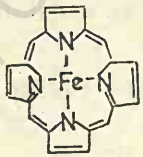
(6-XIII)

Complecșii cu $Fe-O_2$ sînt puțin descriși în literatură, deși ei pot constitui modele pentru explicarea transportului oxigenului de către hemoproteine.

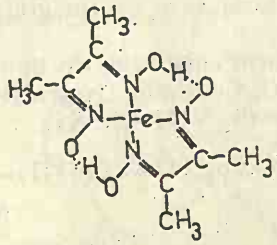
Complexul $[Fe(dmg)_2(im)_2]$, (dmg = dimetilglioxima ; im = imidazol) manifestă o comportare similară hemoproteinei; în soluție prezintă următorul echilibru :

$$Fe(dmg)_2(im)_2 + A \rightleftarrows Fe(dmg)_2(im)A + im \; ; \; A = O_2 \; ; \; CO \; ; \; CN^-$$

Asemănarea cu hemurile este explicată prin analogia structurilor sistemelor fier—porfirină și Fe—dmg reprezentate în (6. XIV) și (6. XV).



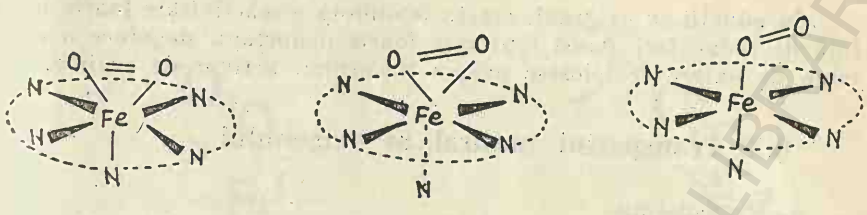
(6-XIV.)



(6-XV.)

Într-o subunitate de hem se menționează trei moduri posibile de legare a oxigenului de fier : o legare simetrică, (6. XVI) asimetrică (6. XVII) și monodentată (6. XVIII). Cercetările recente sînt în favoarea

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



(6-XVI.) (6-XVII) (6-XVIII)

modelului (6. XVIII), monocoordinat cu unghiul Fe—O—O— de aproximativ 120°. Modelul care se aseamnă cel mai mult cu hemul, ca structură este compusul Fe(II) — ftalocianin-tetrasulfonat care are proprietatea de a absorbi oxigen, atît în soluție, cît și în stare solidă. Se presupune că produsul final este un dimer, cu molecula de oxigen situată între cele două planuri (fig. 6.4), în timp ce compusul Co(II) ftalocianin-tetrasulfonat apare ca un superoxid monomer-complex.

Aspectele importante ale acestor compuși „modele" îl constituie atît reversibilitatea fixării oxigenului cît și a reactivității oxigenului coordinat.

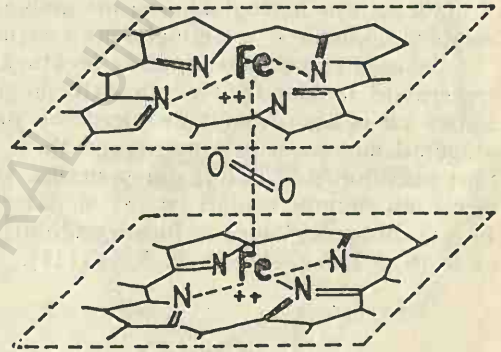


Fig. 6.4. — Fe (II) ftalocianino-tetrasulfonat

Unul din factorii care pot contribui la caracterul adiției oxigenului și a reversibilității acestei reacții îl constituie „bazicitatea" combinației complexe inițiale, determinată de densitatea de electroni din jurul ionului metalic care poate să interacționeze „π" cu orbitalele moleculare de antilegătură ale moleculei de oxigen (v. pag. 214).

Densitatea electronică din jurul nucleului poate fi modificată prin coordinarea unor liganzi cu proprietăți π donoare superioare (P > I > Cl), sau prin modificarea ionului metalic central (Ir > Rh > Co). Cu cît crește densitatea electronică a ionului metalic, cu atît crește capacitatea de fixare a oxigenului.

Informații directe cu privire la modul de fixare a oxigenului de către combinațiile complexe, pot fi obținute din datele structurale și anume din lungimea legăturii O—O în aducții respectivi.

În aducții cu oxigenul, acesta manifestă o reactivitate foarte mare față de reducători. Acest fapt este foarte important, deoarece o clasă mare de oxigenare folosesc oxigen molecular, activat de enzime.

6.3. Transportul natural al oxigenului

a. *Hemoglobina*

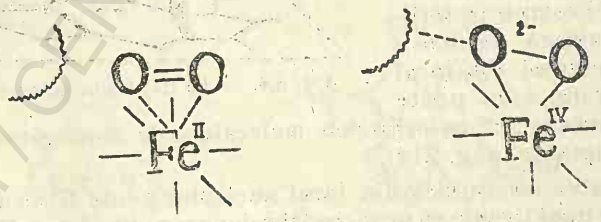
Realizarea transportului oxigenului în organism, la animalele superioare și depozitarea lui, este realizată de către hemoproteine.

Microorganismele nu necesită un sistem transportor de oxigen, deoarece ele obțin oxigenul necesar respirației prin simplă difuziune. La unele specii de animale, transportul oxigenului se face de către Cu — proteine(58), iar pigmentul respirator al ascidiilor conține vanadiu (III) (43).

Transportul și depozitarea oxigenului la animalele superioare este realizat de către *hemoglobină* și *mioglobină*. Hemoglobina transportă oxigenul la locul arderii în celulă unde este cedat mioglobinei.

Fierul din hemoglobină și mioglobină este Fe(II). Formele oxidate methemoglobină și metmioglobină conțin Fe(III) și nu leagă oxigenul.

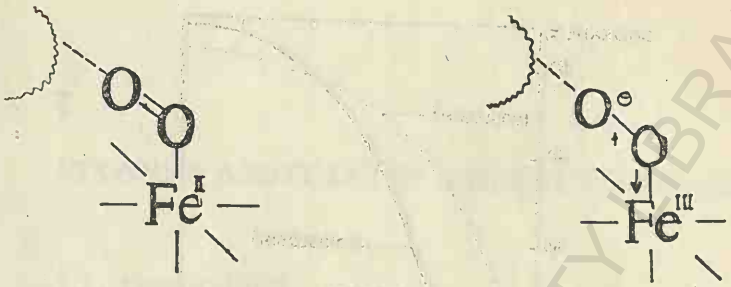
În ceea ce privește tipul de legătură ce se stabilește în procesul de trecere de la hemoglobină la oxihemoglobină, datele magnetochimice indică că el este însoțit de pierderea paramagnetismului, cu toate că oxigenul molecular este paramagnetic și un ligand cu cîmp slab. Acest fapt presupune că Fe(II) din molecula hemoglobinei își pune în comun electronii neîmperechiați cu cei ai oxigenului. După Pauling, legătura $Fe-O_2$ în hemoglobină ar forma unghiuri de 120° și ar putea fi formulată ca în (6. XIX) (248) sau (6. XX) (111).



(6.XX.)

Structura (6. XIX) este similară cu legătură $Co-O_2$ din cobaglobine (58), iar structura (6. XX) similară cu legătura $Ir-O_2$ în moleculele menționate (pag. 281).

Stabilitatea Fe(II) în mioglobină și hemoglobină s-ar datora porțiunii proteice a moleculei.



(6.XIX.)

b. *Mioglobina* existentă în țesutul muscular, are o masă moleculară de aproximativ 17 500, și este alcătuită dintr-o grupare prostetică (hem) înconjurată de un lanț proteic legat coordinativ de Fe(II) prin azotul imidazolic (fig. 6.5). Are un conținut în fier de 0,34% și o afinitate față de oxigen de șase ori mai mare decît a hemoglobinei.

Oxigenarea hemoglobinei și mioglobinei se face conform curbelor din fig. 6.6.

Oxigenarea are loc printr-un canal de ≈ 20 Å căptușit cu grupe polare ; ea depinde de concentrația oxigenului, a CO_2 și de pH, care influențează protonarea sau deprotonarea grupărilor polare care căptușesc canalul, respectiv a grupărilor ionizabile.

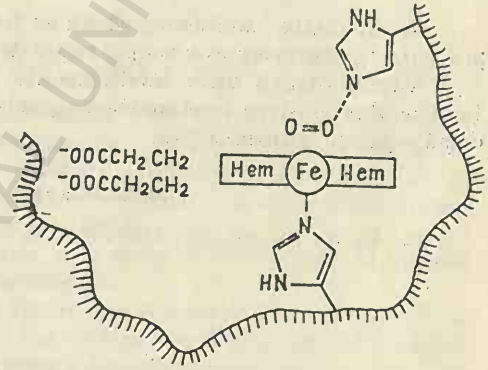


Fig. 6.5. — Legătura oxigenului cu hemoglobina

Prin rearanjările din molecula oxihemoglobinei, anumite grupări devin mai disociabile, astfel că, are loc creșterea pK_a moleculei. Se crede că la acest efect contribuie gruparea imidazol din histidină, dar influențează și celelalte subunități existente din moleculă. Acest fenomen poartă denumirea de *efect Bohr* (248). Forma sigmoidică a curbei hemoglobinei, comparativ cu a mioglobinei de tip hiperbolic (fig. 6—6) indică lipsa unei interacțiuni între inelele hem.

Sub acțiunea unor oxidanți Fe(II) din molecula hemoglobinei poate trece în Fe(III), pierzîndu-și proprietatea de a fixa reversibil oxigenul molecular ; se formează *methemoglobina*.

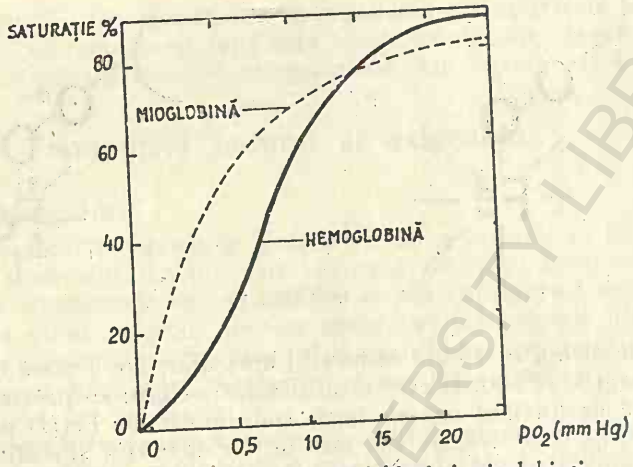


Fig. 6.6. — Oxidarea hemoglobinei și mioglobinei

În eritrocite, methemoglobina se formează continuu, dar nu crește peste 0,4%, deoarece este redusă rapid de către methemoglobin-reductaze.

Administrarea unor medicamente ca: acetanilidă, fenazonă, sulfamide dau naștere unei methemoglobinemii toxice, care pot să dispară după oprirea administrării.

BIBLIOGRAFIE

32 43, 53, 58, 108, 109, 111, 248, 330.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

7

FIXAREA AZOTULUI ÎN SISTEME BIOLOGICE

7.1. Generalităţi

Azotul joacă un rol deosebit în procesele vitale ale sistemelor biologice. Utilizarea lui de către diferite organisme este cunoscută sub denumirea de fixarea azotului. În cazurile în care procesul nu se limitează exclusiv la sisteme biologice, prin fixarea azotului se înţelege orice reacţie prin care azotul se leagă covalent cu atomii altor elemente.

Azotul formează compuşi, care prezintă stări de oxidare de la -3 la $+5$, după cum urmează:

$\overset{-3}{NH_3}$ $\overset{-2}{N_2H_4}$ $\overset{-1}{NH_2OH}$ $\overset{0}{N_2}$ $\overset{+1}{N_2O}$ $\overset{+2}{NO}$ $\overset{+3}{HNO_2}$ $\overset{+4}{NO_2}$ $\overset{+5}{HNO_3}$

chimia sa fiind dominată de stabilitatea cinetică şi termodinamică a moleculei sale. Energia cinetică de separare a celor doi atomi din moleculă este de 226 Kcal/mol; orice reacţie de disociere iniţială a moleculei de azot, are o energie de activare foarte ridicată şi necesită temperaturi de aproximativ 1 000 °C sau chiar mai mari.

Reducerea azotului la amoniac este singurul lui proces important de fixare naturală sau pe cale industrială.

Procesul biologic natural, de fixare al azotului, decurge la temperaturi cuprinse între 15—40 °C şi are loc, sub acţiunea nitrogenazei, enzimă complexă, formată din două proteine care conţin molibden şi fier. Mecanismul intim al acestei fixări nu este nici astăzi pe deplin elucidat.

În sistemele industriale nebiologice fixarea azotului la amoniac se face prin cataliză heterogenă, procedeul Haber—Bosch, sau la oxid de azot.

În general, procesele de fixare reductivă sînt mult mai favorizate termodinamic decît cele oxidative. De exemplu la 25 °C:

$N_2 + 3H_2 \rightleftarrows 2NH_3$ $\quad \Delta H = -10{,}92$ Kcal/mol

$N_2 + O_2 \rightleftarrows 2NO\ (g)$ $\quad \Delta H = +(2 \times 21{,}6)$ Kcal.

Modul de activare a moleculei de azot, anterior reacţiei chimice constituie, aspectul de bază al fixării lui.

Stabilitatea moleculei de azot, cît şi formarea şi stabilitatea complecşilor pe care îi formează cu ionii metalelor tranziţionale, poate fi explicată ţinînd seama de teoria orbitalilor moleculari.

Structura electronică a azotului (N_2) (fig. 7.1) arată că cei şase electroni de valenţă ocupă un orbital σ şi doi orbitali π de legătură. Cele două perechi de electroni neparticipanţi, cîte una de fiecare atom de azot, ocupă orbitalii σ localizaţi la cei doi atomi de azot (grupul θ_4 şi θ_5). Acest grup împreună cu orbitalii de antilegătură π^* neocupaţi joacă un rol însemnat la formarea şi stabilizarea complecşilor ionilor metalelor tranziţionale, avînd ca ligand molecula de azot.

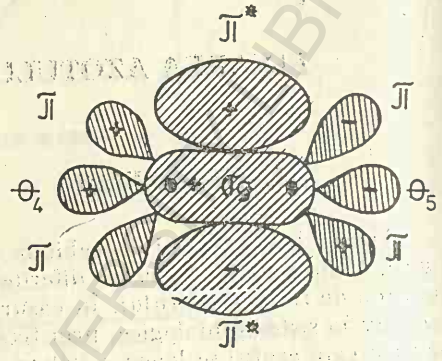


Fig. 7.1. — Molecula N_2

7.2. Fixarea chimică şi neenzimatică a azotului

Avînd în vedere deficienţa acută în proteine pe plan mondial, fixarea azotului atmosferic a constituit şi constituie o problemă de interes deosebit.

Cercetările efectuate în această direcţie au abordat 3 căi de fixare: chimică, neenzimatică şi biologică.

Lucrări recente, descriu o clasă relativ nouă de combinaţii complexe ale metalelor tranziţionale, care conţin azotul molecular drept ligand. Interesul pentru această clasă de substanţe a crescut prin faptul că aceşti complecşi anorganici, ar putea explica procese asemănătoare conversiei biologice a azotului la amoniac de către bacterii.

Un mare număr de lucrări semnalează izolarea a numeroşi complecşi ai azotului, cu ionii metalelor tranziţionale, indicate în fig. 7.2.

Combinaţiile complexe care conţin N_2 ca ligand, pot fi obţinute fie prin fixarea directă a azotului molecular, fie prin reacţia acestora, cu diferite substanţe care prin descompunere generează azot molecular cum sînt hidrazina, amoniacul, azidele organice, ionul azidă etc.

Azotul poate forma combinaţii complexe mononucleare de tipul: L_nMe-N_2; $L_5Me(N_2)_2$, sau binucleare de tipul $L_nMe-N=N-MeL_n$ unde azotul este în punte.

Volpin şi colab., (335) au arătat, în anul 1964, că unele săruri de Ti, V, Cr, Fe, Mo şi W reduc azotul în condiţii blînde şi că unele sisteme

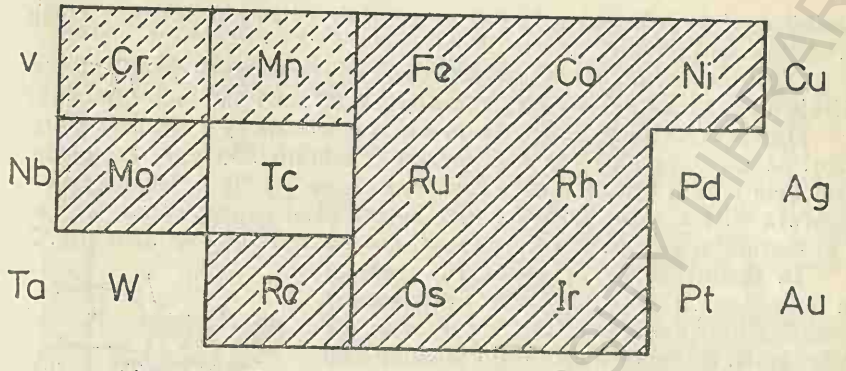


Fig. 7.2. — Elemente care formează complecși stabili cu azotul

mixte ale compușilor metalelor tranziționale și compuși organo-metalici în condiții blînde, fixează azotul.

Izolarea primului compus, la care s-a stabilit pentru prima dată proprietatea N_2 de a funcționa ca ligand a fost făcută de Allen și Senoff (5, 6) prin tratarea $RuCl_3$ cu hidrat de hidrazină, în soluție apoasă.

Alte cercetări efectuate, au condus la elaborarea unor metode noi care se deosebesc între ele, prin sursa care generează ligandul, azot. Harrison și Taube (126) au arătat că ionul pentamino-monoacvoruteniu (II) formează cu N_2 la presiunea ordinară și la 100 atmosfere, următorii compuși:

$$[Ru(NH_3)_5(H_2O)]^{2+} \xrightarrow{N_2} \begin{cases} \xrightarrow{1\ atm} [(NH_3)_5Ru-N\equiv N-Ru(NH_3)_5]^{4+} \\ \xrightarrow[100\ atm]{} [Ru(NH_3)_5(N_2)]^{2+}. \end{cases}$$
$$\xrightarrow{H_2O}$$

O altă reacție de aceeași importanță este cea descoperită de Sacov și Rossi (274). Studiind prepararea și proprietățile complecșilor Co(III) avînd ca ligand ionul hidrură, cu formula generală: CoH_3L_3 unde L = $= PPh_3$; $PEtPh_2$, PEt_2Ph, ei au arătat că acești complecși reacționează la temperatura camerei și presiune atmosferică, cu azotul molecular atît în stare solidă, cît și în soluție, conform reacției:

$$CoL_3H_3 + N_2 \rightleftarrows CoN_2HL_3 + H_2$$

În atmosferă de azot, echilibrul este deplasat spre dreapta, iar în atmosferă de hidrogen, spre stînga. În această reacție se poate observa competiția azotului și a hidrogenului elementar pentru a ocupa aceeași poziție în complex; reacția ar putea furniza indicații cu privire la un

posibil mod de inhibare a fixării azotului de către hidrogenul elementar în sistemele naturale.

O problemă importantă ridicată de aceste combinații complexe o constituie natura legăturii Me—N_2, cunoscută fiind „inerția" moleculei de azot.

Datele structurale existente au dus la concluzia că o legătură metal — azot, se aseamănă cu cea din carbonilii metalici, în care molecula de azot este legată terminal cu o legătură sigma (σ) N_2 — ion metalic și o legătură π, ion metalic → N_2, prin intermediul suprapunerii orbitalilor *d* ai metalului cu OM π^z corespunzătoare ale moleculei de azot (fig. 7.3).

În scopul realizării reducerii azotului la amoniac, a fost studiată comportarea combinațiilor complexe față de o serie de reducători. Reducerea azotului din complecși la amoniac, nu a fost realizată practic pînă în prezent. S-a sugerat reducerea $[Ru(NH_3)_5(N_2)]^{2+}$ cu borohidrură de sodiu, dar se pare că amoniacul rezultat s-ar datora reducerii unor urme de complex cu hidrazină $[Ru(NH_3)_5(N_2H_4)]^{2+}$ obținută ca impuritați.

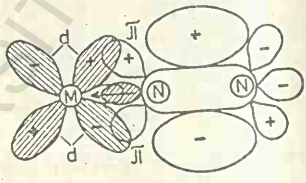


Fig. 7.3. — Legătura Me tranzițional — N_2 în complecși

Chatt, Richards, Sanders și Ferguson (46) au investigat efectul adăugării unor acizi tari la complecșii $[CoH(N_2)(PPh_3)_3]$; $[Ru(NH_3)_5(N_2)X_2]$ ($X = Cl^-, BF_4^-$); $[Co(N_2)(PPh_3)_3]$ și trans $(IrCl(N_2)(PPh_3)_2]$ în speranța că s-ar putea obține o reducere la amoniac, prin protonarea azotului coordinat, cu eliberare de electroni din metal, cînd s-ar realiza o oxidare simultană a ionului metalic și reducerea azotului. În toate cazurile azotul a fost eliberat din complex fără reducere.

În procesul de fixare a N_2 în scopul conversiei lui la amoniac sînt importante coordinarea moleculei N_2 și scindarea legăturii N—N, prin intermediul H, conform schemei:

a) $Me + N_2 \rightleftharpoons Me - N_2$

b) $Me - N_2 \xrightarrow{H_2} Me \ldots \overset{H}{\underset{|}{N}} \equiv \overset{H}{\underset{|}{N}} \rightarrow Me + 2NH$

Etapa b) a fost realizată numai la sisteme complexe binare. De aici, concluzia că formarea amoniacului necesită un sistem complex binar de forma M_1 (fixarea N_2)—M_2 (hidrogenare).

În ultimii ani sînt descrise metode neenzimatice de conversie a azotului la amoniac. Astfel Vollpin și Shur (334) au obținut amoniac utilizînd clorurile metalelor tranziționale în prezența reactivilor Grignard sau a compușilor de alchilaluminiu la presiune ridicată. Van Tamelen a obținut cantități însemnate de amoniac, folosind complecși de Ti(IV),

naftaleniură de sodiu și azot, în condițiile mediului ambiant (333). Un proces ciclic de obținere a amoniacului cu un randament de 170% pe baza reducerii azotului utilizînd Ti catalizator este redat în fig. 7.4.

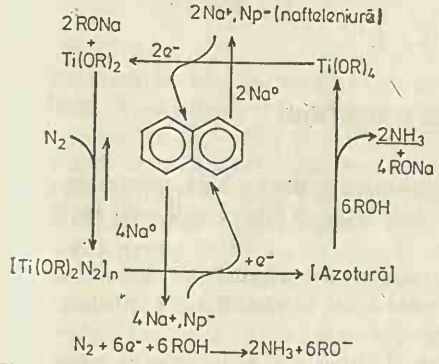
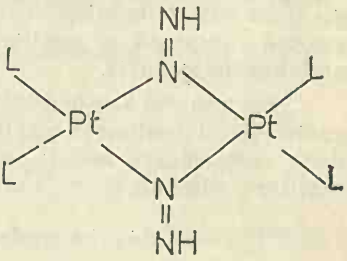


Fig. 7.4. — Procesul ciclic de reducere a N_2

Deosebit de interesant s-a dovedit hidrura $(C_5H_5)_2TiH$ dimerizată prin intermediul atomilor de H. Acest compus fixează N_2 atmosferic, din care azotul poate fi pus în libertate sub formă de amoniac.

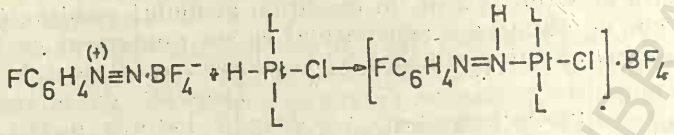
Cel mai mare progres în fixarea neenzimatică a azotului a fost realizat de Schrautzer, Schlesinger și Doemeny (304), cu ajutorul unui sistem format din molibdat de sodiu, 1—tioglicerină, sulfat de Fe(II) hidratat în cantități catalitice, borohidrură de sodiu și azot la presiune de cca 140 atm. După autorii citați complexarea azotului în N_2-ază are loc în partea moleculei care conține molibden, azotul fiind apoi redus de către partea enzimei ce conține fier.

Produsul final al fixării azotului este amoniacul; procesul reductiv ar putea avea loc și prin intermediul diiminei (NH = NH) sau al hidrazinei. Diimina este un compus instabil, dar ea poate rămîne legată de enzimă timp îndelungat. Reacția între hidrazina în soluție apoasă și $[(PPh_3)_2PtCl_2]$ duce la producerea unor hidruroderivați $[(PtPh_3)_2PtHCl]$, alături de un derivat intermediar de dehidrodiimină (7. III) a cărei structură a fost confirmată cu ajutorul razelor X.



(7-III.)

Modelul sugerat pentru nitrogenaze pare a include doi centri formați din doi ioni metalici diferiți, unul cu azot iar celălalt cu hidrură. Un model anorganic al nitrogenazei a fost sugerat considerîndu-se că sarea de benzdiazoniu poate constitui un model pentru complexul metal-azot, iar hidrura de platină fosfinstabilizată pentru o hidrură de molibden sau fier, Astfel s-a observat că terafloroboratul de p-fluorbenzen diazoniu și complexul $[(PEt_3)_2PtHCl]$ reacționează împreună cu randament aproape cantitativ și formează un complex cristalin, colorat în galben (7—IV).



(7.IV.)

7.3. Fixarea biologică a azotului

Fixarea biologică a azotului urmărește reducerea și conversia acestuia în amoniac care poate fi cedat biosferei ca atare sau sub formă de amide, aminoacizi, proteine etc.

Organismele capabile să fixeze azotul au apărut pe o treaptă superioară a dezvoltării evolutive, atunci cînd cantitatea de amoniac din atmosferă a început să se micșoreze.

Acestea sînt microorganisme asimbiotice (bacterii și alge albastre), simbiotice, unele bacterii ca *Rhizobium* și sistemul radicular al unor plante din familia leguminoaselor a căror nodozități radiculare servesc drept centru de fixare al azotului.

În anul 1960 a fost izolat un extract acelular din bacteriile anaerobe *Clostridium pasteurianum* și din bacteriile aerobe *Azotobacter vinlandii* cărora li se atribuie fixarea azotului în vitro.

Factorii determinanți care contribuie la fixarea azotului includ: un agent reducător, un agent de transfer de electroni, o sursă de energie și un sistem metaloproteic enzimatic (*nitrogenază* sau N_2-ază), enzimă complexă ce conține molibden și fier deosebit de sensibilă la acțiunea oxigenului.

Nici una din aceste fracțiuni metalo-proteice nu fixează independent azotul și nu realizează nici un fenomen legat de fixarea lui. Între cele două componente metalo-proteice ale enzimei, poate exista următorul echilibru dinamic:

$$\text{Mo—Fe proteină} + 2\text{Fe proteină} \rightleftarrows N_2\text{-ază}$$

Nitrogenazele cuplează, hidroliza ATP-ului cu transferul de electroni necesari reducerilor.

Hidrogenul este un inhibitor competitiv al reducerii N_2, iar CO un inhibitor al tuturor reducerilor cu excepția a H_3O^+.

Oxidul de carbon inhibă atît fixarea cît și producerea de hidrogen. Acest fapt sugerează că un metal este prezent sub formă de hidrură iar celălalt leagă și activează molecula de azot.

Hidrura metalului, poate reacționa cu complexul Me—azot dînd un aduct care poate fi redus în continuare la NH_3

$$-M-H-N\equiv N-M- \rightarrow -M-N=N-M-$$
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad H$$

Compoziția nitrogenazelor, enzime metalo-proteice, este incomplet elucidată. Fracțiunea 1 a nitrogenazei din azotobacter vinlandi (fracțiunea proteină Mo—Fe) a fost izolată în formă cristalină ; are greutatea moleculară ≈ 270 000—300 000 și conține molibden, fier, cisteină și sulf labil în raport de 1 : 20 : 20 : 15. Fracțiunea a doua proteină fier are greutatea moleculară aproximativ de 40 000 și conține 2 atomi de fier și două grupe sulfură ; este labilă, dar poate fi păstrată la temperatura azotului lichid, este foarte sensibilă la oxigen și își poate pierde activitatea după cîteva minute.

Toate reacțiile catalizate ale N_2-ază sînt reducătoare și necesită o sursă de electroni și un agent natural de transfer de electroni care interacționează, dar nu fac parte din N_2-ază. Agenții naturali de transfer de electroni sînt proteine de tip „feredoxină" (Fds) care sînt proteine acide cu fier și sulf, sau „flavodoxine" (Flds) proteine acide cu grupe prostetice flavin-mononucleotide, cu potențiale redox foarte scăzute.

În extractul de Clostridium pasteurianum, care în absența oxigenului fixează azotul reversibil în prezența piruvatului de sodiu, au fost puse în evidență două fracțiuni enzimatice : o fracțiune care funcționează ca sistem donor de hidrogen (HDS) incluzînd hidrogenarea și sistemul de metabolizare al piruvatului și o fracțiune care cuprinde sistemul de activare al azotului (NAS).

Mecanismele de fixare a azotului după D'Eustachio, Hardy și Mortenson (84 b) sînt indicate în fig. 7.5.

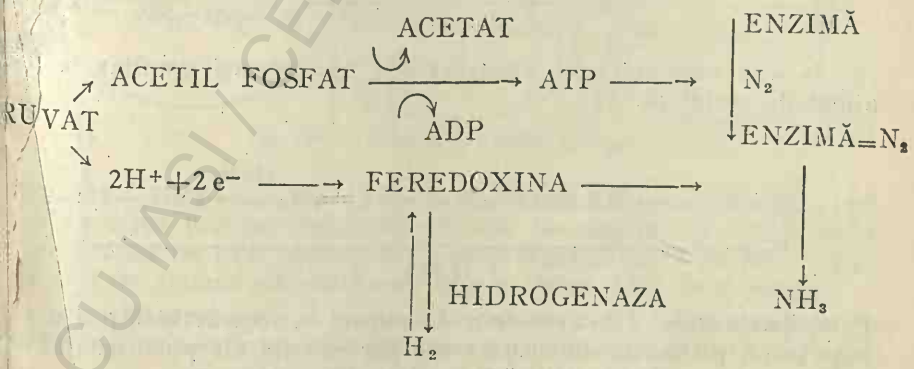


Fig. 7.5. — Mecanismul de fixare al azotului,

Piruvatul de sodiu funcționează ca donor de hidrogen, care este transferat feredoxinei, iar aceasta în urma reducerii cedează hidrogen sub acțiunea hidrogenazei, care este utilizat la reducerea azotului la amoniac. Hidrogenul molecular reduce feredoxina și formează azotul amonical.

Piruvatul de sodiu poate furniza în același timp energia de reacție. Astfel prin intermediul acetilfosfatului, formează ATP, care constituie sursă de energie pentru fixarea azotului. Transferul de electroni de către N_2-ază implică elucidarea unor aspecte ca :

— natura cuplajului între agentul de transfer al electronilor și N_2-azei ;

— numărul de electroni transferați la fiecare treaptă ;

— proteina N_2-azei și grupul prostetic-metal la care sînt transferați electronii ;

— interacțiunea electronilor și ATP cu N_2-aza, rolului acestuia și a sursei fiziologice de electroni în alte organisme decît clostridium.

7.3.1. Mecanisme și modele de fixare biologică a azotului

Dintre mecanismele de fixare biologică a azotului numai două mecanisme sînt luate în considerare : — unul din ele implică reducerea azotului la amoniac pe calea unui intermediar de nitrură. Molecula de N_2 este coordinată de un singur ion metalic prin intermediul a șase electroni care ar fi introduși treptat (7. V).

a) $$M + N_2 \longrightarrow M-N\equiv N \xrightarrow[3H^+]{3e} NH_3 + M\equiv N \xrightarrow{2H_2O} NH_3 + M-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-OH$$

(7.V.)

În altă variantă cei 6 electroni sînt transportați simultan la doi atomi de metal (7. VI).

b) $$2M + N_2 \longrightarrow M-N\equiv N-M \longrightarrow 2M\equiv N \xrightarrow{4H_2O} 2NH_3 + 2M-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-OH$$

(7.VI.)

Participarea acestor intermediari de nitrură la fixarea biologică a N_2 pare puțin plauzibilă din cauza valorilor ridicate ale potențialului de reducere și necesitatea utilizării unui mediu neapos.

Calea care implică reducerea azotului prin intermediul diazenei sau hidrazinei evită ca intermediar diazena liberă, termodinamic nefavorabilă ($\Delta H = +48{,}7$ Kcal/mol), cu excepția formării unei diazene stabilizată prin legături cu ionul metalic și cu hidrogenul.

Au fost sugerate diferite scheme de fixare ale azotului, unele se bazează aproape exclusiv pe rezultate cu sisteme sintetice, iar altele pe baza rezultatelor biochimice sau anorganice. O propunere de acest tip a evoluat din studiile model al hidrogenazei folosind cianură de Co(II). Acest mecanism propune următoarele cerințe pentru nitrogenază : un loc dinuclear în mediu neapos ; doi atomi de metal ce pot forma o dublă legătură coovalentă, sau o singură legătură covalentă cu azotul; un mijloc de transfer al atomilor de H pe azot și protejarea catalizatorului contra otrăvirii cu H_2, O_2, cianură, CO compuși cu care reacționează nitrogenaza.

Conform mecanismului sînt implicate două grupări proteice formate din atomi de C și metal M = Co(II) sau Fe(I) aproximativ plan paraleli. Bazat pe termodinamica chimiosorbției, au fost sugerată următorul model de reacții (fig. 7.6).

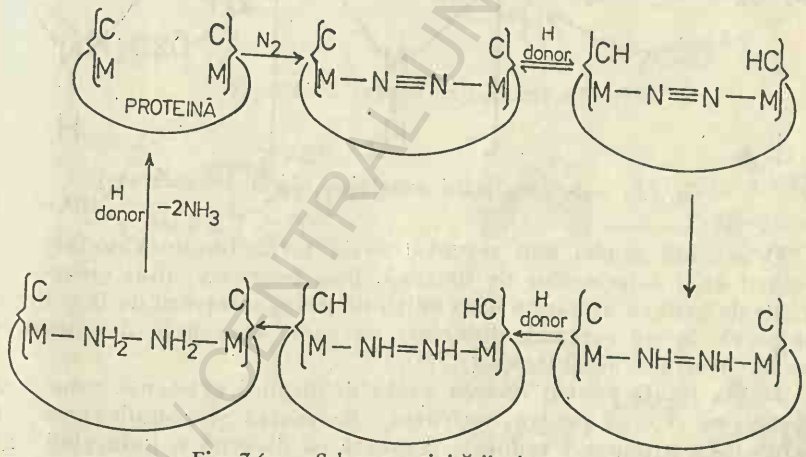


Fig. 7.6. — Schema activității nitrogenazei, [142]

Implicarea succesivă a intermediarilor de diimină și hidrazină duce la creșterea lungimii legăturilor N—N. S-a sugerat că aceste reacții s-ar realiza fie prin modificarea configurației enzimei, fie prin variații de pH (ca fixarea simbolică) sau prin acțiunea ATP, în speciile vii.

O altă propunere de schemă model, evită, de asemenea, formarea diazenei, prin inserția azotului într-un sistem dihidrură (fig. 7.7) (34).

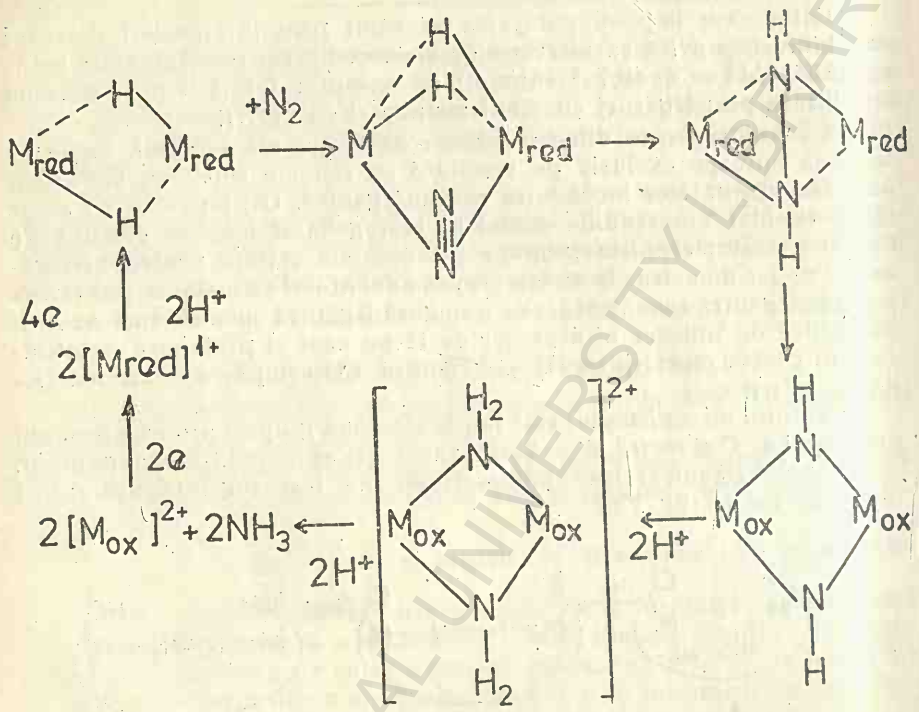


Fig. 7.7. — Schema fixării azotului cu hidruri metalice, [34]

O schemă model mai recentă, evită termodinamica nefavorabilă formării unui intermediar de diazenă, prin formarea unui complex dinuclear de azot ca urmare a unei adiții de patru electroni de la o hidrură dinucleară, la un complex dinuclear de azot, care prin descompunere pune în libertate hidrogen (fig. 7.8).

Teoria finală pentru fixarea azotului implică existența unor locuri separate pe N_2-ază pentru activarea electronică și complexarea substratului și se propune o reducere treptată cu diazenă și hidrazină legată de N_2-ază ca intermediari ai fixării azotului (fig. 7.9 a, b) (125).

În ipotezele formulate în sprijinul acestui model autorii au ținut seama de următoarele :

a) Rolul major al ATP este activarea electronică, cu formarea unui nucleofil puternic sau probabil a unei hidruri metalice care transformă H_2 sau substraturile reduse ale N_2-azei. Mecanismul presupune existența unui produs intermediar cu grupări care pierd ușor electroni favorizînd reducerea.

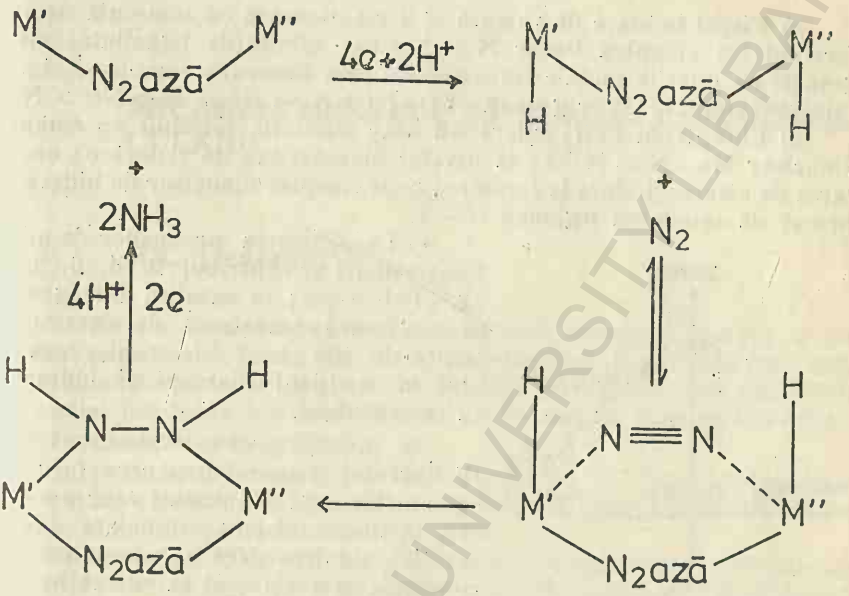


Fig. 7.8. — Schema de reducere a N_2 (76)

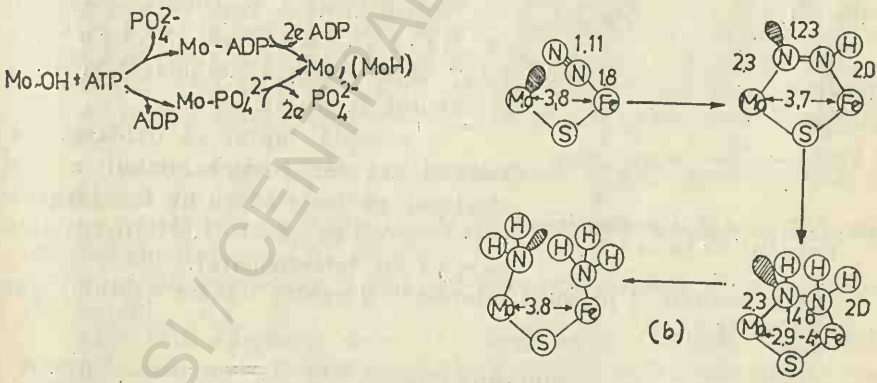


Fig. 7.9. — Fixarea N_2 după Hardy și col. (125)

b) Activarea electronică și complexarea substratului are loc în poziții diferite iar complexarea substratului are loc la atomii de Mo și Fe ai nitrogenazei, legați prin intermediul unui ligand cu sulf. Studiile despre inhibitor, experiențele de înlocuire a metalului și studiile privind modele ale substratului sînt compatibile cu modelul.

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITY LIBRARY IAȘI

c) Fierul în stare de valență $\leqslant 2$ reacționează cu molecula de azot formînd un complex linear $N \equiv N-Fe$. Afinitățile ligandului nitrogenazei cu diferite metale tranziționale care formează complecși ai azotului sînt similare : Nitrogenază $-CO \approx NO \gg N_2 \sim C_2H_2 \sim H_2 > N^{3-} > N_2O$.

d) Complecșii FeN_2 suferă un atac nucleofil, formînd un complex dinuclear $Mo-N=N-Fe$ la nivelul diazenei sau de reducere ; acceptarea de electroni, duce la formarea unui complex dinuclear de hidrazină, urmat de scindarea legăturii N—N.

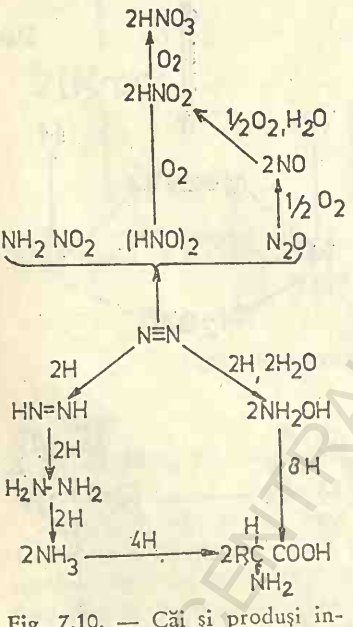


Fig. 7.10. — Căi și produși intermediari de fixare a N_2

e) La formarea produșilor de adiție intermediari ar contribui 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 electroni ; în cataliza nitrogenazei se sugerează transferul de electroni în trepte de cîte 1—2 electroni, ccea ce vine în sprijinul diazenei și hidrazinei ca intermediari.

Se presupune că intermediarul fixării azotului asimilabil pentru formarea compușilor organici azotați este amoniacul. În literatură sînt semnalate diferite reacții oxidative care au drept rezultat conversia amoniacului la nitrat în procesul de nitrificare.

Nitrificarea se realizează prin specii de „N i t r o s o m a s“ sau „N i t r o b a c t e r“ care oxidează amoniacul la nitrit și nitritul la nitrat.

Se acceptă faptul că oxidarea nitritului are loc prin schimbul a doi electroni, cu toate că nu au fost identificați compuși cu azot + 1. Hidroxilamina pare să fie intermediarul.

Căile posibile și produșii intermediari pentru fixarea azotului sînt redate în fig. 7.10.

BIBLIOGRAFIE

5, 6, 34, 46, 53, 65, 76, 84, 93, 108, 109, 125, 126, 142, 274, 304, 333, 335, 343

BCU IAȘI CENTRALĂ UNIVERSITARĂ

8

MICROELEMENTELE ȘI BOLILE CARDIOVASCULARE

8.1. Generalități

Bolile cardiovasculare, BCV, reprezintă principala cauză a deceselor pe plan mondial. În țările industrializate, aproximativ 50% din totalul deceselor se datoresc lor, în timp ce în țările slab dezvoltate industrial incidența lor este scăzută, iar în cele în curs de dezvoltare ocupă o poziție intermediară.

Între factorii favorizanți ai BCV, ocupă un loc important regimul alimentar, concentrația crescută a lipidelor în sînge, activități fizice reduse, tensiunii psihosociale și fumatul.

Un raport al OMS-ului din 1972 și 1973 atrage atenția asupra importanței dezechilibrului microelementelor din organism în etiologia BCV la om, în raport direct sau indirect cu situația geografică a diferitelor grupuri de populație și cu gradul lor de dezvotare tehnică (1). De altfel în cadrul a trei reuniuni internaționale (203, 204, 363) ținute sub egida Agenției Internaționale de Energie atomică (A.I.E.A.) și a O.M.S.-ului, în 1971 și 1973, au fost discutate probleme privind :

— relația între oligo-elemetele tisulare și cardiopatia ischemică umană,

— relația între hipertensiunea arterială și concentrația renală și hepatică a Cd și Zn la om,

— relația între mortalitatea de origină cardiovasculară și caracteristicile chimice ale apei potabile,

— studii geochimice și BCV, precum și oligo-elementele în nutriția omului.

Absorbția diferitelor elemente, dependentă de o mulțime de factori externi, dintre care răspîndirea lor în natură și activitățile umane ca : poluarea aerului, apei, alimentelor, tratamentul apelor și a reziduurilor alimentare și industriale, irigațiile, utilizarea tot mai largă a produselor chimice în agricultură, zootehnie etc., modifică continuu echilibrul sărurilor minerale și astfel, biosfera în continuă contaminare și redistribuire a sărurilor și a ionilor metalici, influențează destinul nostru biologic.

Dintre microelementele cu rol mai important în BCV sînt: Cd, Cr, Cu, Se, Zn, Ni, Mn, V, Co și Mg, în timp ce Mo, F, I, Li și Si fără a fi lipsiți de interes, prezintă totuși o importanță secundară.

La populațiile cele mai predispuse la ateroscleroză și infarct miocardic, ca cele ale SUA, s-a constatat o concentrație tisulară a cromului semnificativ inferioară comparativ cu cele din Asia și Africa, la care afecțiunile amintite sînt mult scăzute. Concentrația tisulară redusă a cromului la populația SUA este explicată de către Schroeder și col. (284, 285) printr-un consum ridicat de zahăr, orez și alte alimente rafinate, cu un conținut redus în crom, asociat cu eliminarea crescută pe cale urinară, comparativ cu zahărul brut și orezul nedecorticat, consumate mai ales, de popoarele Asiei și Africii (vezi și Cr).

Cromul conferă protecție contra leziunilor aterosclerotice la animale de experiență. Incidența maladiilor coronariene printre locuitorii din Finlanda de est, comparativ cu cei din Finlanda de vest, este explicat, cel puțin parțial, prin conținutul în crom diferit al apei potabile: 2,6 μg/l în Finlanda de est, unde incidența maladiilor coronariene este foarte ridicată și 8,6 μg/l în Finlanda de vest, unde ea este mult mai redusă (364).

În funcție de zonele geografice, incidența BCV a fost corelată cu concentrația Cd din aer și mai ales de raportul Cd/Zn din rinichi (vezi Zn, Cd). Cadmiul se găsește concentrat în cantități însemnate în rinichi. Specificitatea sa față de țesutul renal unde se găsește într-o proporție de 7—25 ori mai mare decît în oricare alt țesut, nu este depășită decît de cadmiul inhalat sub formă de microparticule și fixat în plămîni.

O concentrație superioară a Cd, cu acumulare mai ales în cursul primilor 20 ani ai individului, este mai frecvent întîlnită la locuitorii S.U.A., Europei și mai rară la asiatici, ceea ce corsepunde cu modul de repartiție epidemiologică a hipertensiunii.

O concentrație renală crescută a cadmiului a fost semnalată și în cazurile de deces subit, accidental al subiecților suferinzi de hipertensiune, comparativ cu cei cu tensiune normală cu toate că creșterea concentrației renale în Cd, nu este însoțită de o hipertensiune excesivă la muncitorii din industria cadmiului. Raportul Cd/Zn este mai semnificativ clinic decît concentrație absolută a acestuia; o valoare ridicată a acestui raport în rinichi favorizează BCV.

Contaminarea cu cadmiu corelată cu procentul mortalității de boli cardiovasculare, indică independent de influența negativă a acestui element o scădere simțitoare a îmbolnăvirilor în regiunile în care concentrația în seleniu este ridicată.

Capacitatea funcțională optimă a aparatului cardiovascular ar fi condiționată, după Atkins (15) de un echilibru delicat între cel puțin

9 oligoelemente, ale căror implicații în acest context, pot fi urmărite în tabelul 18.

Varo (1974) a observat o corelație între rata scăzută de mortalitate a bolnavilor cardiaco-ischemici și relația calciu-magneziu în alimentație. Consumul mare de lapte și produse lactate în țări ca Suedia, S.U.A., Anglia, cercetate de autorul citat, este însoțit de o mortalitate crescută prin cardiopatii ischemice comparativ cu populația Japoniei, Greciei, Franței, cu un consum scăzut al acestor produse.

Tabelul 18

Oligoelemente și funcția cardiovasculară (15)

Efecte presupuse favorabile	Element	Efecte presupuse nocive
Protejează față de ateroscleroză	Mangan Crom Vanadiu	
Protejează față de ateroscleroză (oral)	Cobalt	Induce ateroscleroza (cînd se injectează)
Protejează față de HTA	Zinc	
Protejează față de calcifierile aortei	Flor	În cantități mari produce necroze miocardice
Protejează față de necrozele cardiace	Seleniu	Alterări cardiace; schimbări ale TA
Menține elasticitatea vaselor sangvine	Siliciu	
Menține elasticitatea vaselor sangvine	Cupru	Crește aterogeneza

În cadrul relației admise între BCV și substanțele minerale existente în apă, alimente și în mediu înconjurător, calitatea apei potabile prezintă o importanță de prim ordin. Numeroase date statistice indică o mortalitate prin BCV inferioară în zonele în care apa potabilă este dură, comparativ cu regiunile în care apa potabilă este lipsită de duritate, este moale (dulce). Se știe că duritatea apei se datorește în cea mai mare parte prezenței sărurilor de calciu și de magneziu cît și ionilor hidrogenocarbonați, neîntîlniți în apele moi. Ținînd seama de capacitatea de dizolvare mare a apei, ea poate extrage și reține din roci, sol, materiale de construcție, alimente și chiar din vesela și ustensilele utilizate la pregătirea hranei, diferite microelemente, în funcție de calitatea ei de a fi dură sau moale.

Acțiunea protectoare a apei dure în afecțiunile cardiovasculare poate fi atribuită sărurilor de calciu și mai ales celor de magneziu, precum și a siliciului și a altor microelemente pe care le conține. Astfel o incidență crescută a BCV se întîlnește în statul Ohio (SUA), în care apa potabilă conține mai puțin de 15 mg Mg/l, în timp ce în sectoarele vecine statului, unde incidența este redusă, conținutul Mg în apă ajunge la 36 mg/l (364).

Interesante sînt relațiile semnalate de diferiți autori (364) privind incidența maladiilor coronariene și conținutul în siliciu, fluor și iod al apelor potabile. Astfel în Anglia mortalitatea datorită bolilor coronariene este mult mai scăzută în zonele în care apa este dură și conține 17 mg Si/l și mult mai ridicată în zonele în care conținutul în apă al siliciului este de numai 7,6 mg/l. De asemenea în Finlanda de est, unde conținutul mediu al siliciului în apă este scăzut 4,8 mg/l, incidența bolilor coronariene este ridicată, comparativ cu Finlanda de vest unde apa conține 7,7 mg Si/l (364).

În regiunile în care apa potabilă este bogată în fluor, frecvența BCV (calcifierii aortei) este mai mică. O corelație negativă între conținutul apelor potabile în iod și frecvența BCV a fost stabilit în Finlanda (364), vulnerabilitatea populației filandeze față de BCV crește cînd apa potabilă conține mai puțin de 3 μg iod/l, cantitate care reprezintă, de altfel, și pragul critic în ceea ce privește apariția gușei endemice (364).

În același timp, factorul de duritate poate inhiba dizolvarea microelementelor nocive, în timp ce acțiunea dăunătoare a apelor moi s-ar putea datora raportului sodiu/calciu sau ușurinței de vehiculare, de transport, al microelementelor toxice extrase din sol, canalizări etc.

O concentrație scăzută a calcilui seric, întîlnită de obicei în regiunile cu ape potabile moi, este însoțită în electrocardiogramă, de o alungire a intervalelor QT; subiecții respectivi produc ușor aritmii și mor subit. Ionii de calciu și magneziu (cap. 3) joacă un rol important în sistemele enzimatice ale miocardului cît și în menținerea echilibrului electroliților, din care cauză orice perturbație a acestuia în miocard, produsă de concentrația în săruri a apei potabile, poate duce la întreruperea stabilității echilibrului acestor elemente în țesuturile cardiace.

Deși sărurile minerale existente într-un regim alimentar normal compensează de obicei variația concentrației lor în mediu înconjurător, în anumite cazuri ca cel al insuficienței cardiace, hipertensiune și stări de stres, restabilirea echilibrului normal al electroliților se face greu, iar o scădere a concentrației apei în calciu sau magneziu, care favorizează reținerea sodiului, poate aduce prejudicii. De altfel numeroase date experimentale au arătat că o absorbție redusă a calciului însoțită de una crescută a sodiului, produc la om, o alterare a funcției cardiovasculare.

Ținînd seama de acțiunea toxică a Cd și Pb în sistemul cardiovascular și de faptul că țevile de fier galvanizat și uneori chiar și cele de plumb utilizate la canalizări, conțin cantități însemnate de cadmiu, care poate fi extras de apă, se poate explica rolul de dizolvant și vehiculant al apei pentru acești ioni.

Deoarece acțiunea dizolvantă a apei asupra rocilor de suprafață sau de adîncime este dependentă de natura rocii, temperatură și timpul de conract, calitatea finală a apei depinde de natura și compoziția solului și în special de aceea a rocilor din adîncime. În cazul rocilor vechi, ca cele de granit, de origină vulcanică, dure și impermeabile, formate din minerale insolubile și din silicați de sodiu și de potasiu, ușor solubili, apa este moale. În schimb, în cazul rocilor mai moi, de origină sedimentară, formate mai ales din calcar, magnezită, dolomită, apa este de obicei dură.

Procentul mortalității de BCV este mai ridicat în regiunile geografice, ce cele din nordul Europei al căror sol este format din roci vechi, precambiene, de aproximativ 600 milioane ani, alcătuite din granit, gneis metaforic sau podzol, cu un conținut sărac în microelemente, cu apă relativ moale și cu precipitații frecvente. În schimb, în regiuni ca Spania, Portugalia, Grecia, Italia, Iugoslavia cu sol mediteranian calcaros, roșu și brun, greu spălat de ape, provenit de la roci sedimentare calcaroase solubile, cu conținut ridicat de calciu, magneziu și microelemente, cu precipitații atmosferice, de obicei, reduse sau sezoniere, mortalitatea de origină cardiovasculară este redusă.

Mortalitate ridicată se întîlnește și în zonele geografice ale Europei, Belgia, Ungaria, România, Italia de Nord, estul Iugoslaviei, cu sol relativ recent format, în era cuaternară, cu o vechime care nu depășește un milion de ani.

Mănescu și col. (197) au urmărit concentrația Ca, Mg, Na, K, Cd și Zn în serul și urina unor persoane sănătoase și suferinde de hipertensiune arterială și cardiopatie ischemică din patru zone diferite ale R.S. România (Hîrșova, Roșiori, Făgăraș și Bușteni), în care conținutul apei potabile în oligo-elemente este foarte diferit.

Variațiile mari ale concentrațiilor în apă ale elementelor cercetate este însoțită de variații mai mici ale acestora în urină și foarte mici în ser. Calculate statistic, aceste variații indică valori semnificative pentru implicația Cd în hipertensiunea arterială, a Ca în cardiopatia ischemică și a potasiului în ambele afecțiuni cercetate. Zincul, magneziul și sodiul nu au prezentat deosebiri semnificative.

Determinarea microelementelor pe eșantioane de țesuturi cardiace, hepatice, renale, de la victime sănătoase, care au suferit acci-

dente mortale, sau de la decedați din cauza bolilor cardiovasculare, au indicat modificări în concentrația tisulară mai ales a Cu, Mg, Se, Ni cît și a raportului Cd/Zn, la subiecții decedați în urma atereosclerozei coronariene, a infarctului miocardic și a hipertensiunii arteriale. Creșterea bruscă și rapidă a concentrației serice a nichelului și manganului în cardiopatia ischemică poate fi utilizată la diagnosticarea precoce a infarctului miocardic.

BIBLIOGRAFIE

15, 86, 173, 197, 203, 204, 255, 284, 285, 328, 343, 363, 364, 373, 376, 377.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

9

METALE, LIGANZI, COMBINAȚII COMPLEXE ȘI BOALA CANCEROASĂ

9.1. Metale

Agenții capabili de a produce tumori, indiferent de specia testată, calea de administrare și doză, se numesc *agenți cancerigeni*. Ei pot fi de natură *chimică* (hidrocarburi aromatice policiclice, amine, nitrosoamine, 4-nitrochinolein-oxidul, azocompuși, alfatoxine, agenți alchilanți, uretani, mase plastice (PCV), metale, asbest etc.), *fizică* (radiații ionizante, arsuri inclusiv cele produse de radiații UV) și *biologică* (virusuri, hormoni și anomalii cromosomiale).

În cadrul agenților cancerigeni și anticancerigeni, în ultimii ani, o atenție crescută a început să se acorde metalelor; în același timp au fost amplificate cercetările privitoare la cunoașterea concentrațiilor relative ale metalelor esențiale în țesuturile neoplazice și normale pentru a sesiza diferențe care ar putea constitui indicii în controlul cancerului.

Astfel de cercetări au fost efectuate pe secțiuni de organe după efectuarea unor intervenții chirurgicale, în urină, sînge, păr, unghii. Datele obținute sînt în general neconcordante deoarece nu s-a ținut seama de procesul dinamic al evoluției maladiei, determinările efectuîndu-se de obicei în sîngele total sau în plasmă.

Astfel, cercetări privitoare la conținutul Fe, Zn, Cu, Mn, Co, Ni, Mg și Co în osul normal și în osteosarcomul uman au arătat o creștere în conținutul Fe, Zn, Cu și Mn în sarcomul osteogen și o scădere a celorlalte metale. În mod analog, studiul conținutului Fe, Co, Cu și Zn la 52 pacienți suferinzi de cancer faringian în diverse stagii de îmbolnăvire, au indicat mai ales tulburări în metabolismul fierului și abateri considerabile față de valorile normale la celelalte metale. În trecut incidența cancerului hepatic a fost corelat cu ingerarea unor cantități crescute de fier, provenit din alimentație, sau vase de bucătărie (berea Kaffir la tribul Bantu din Africa de Sud), iar a cancerului gastric la om, cu conținutul ridicat de Zn și Cr. De altfel, acumularea unor metale sau ioni metalici în unele organe, în boli maligne sau prin îmbătrînirea organismului este de mult cunoscută.

Studiul conținutului Zn, Fe, Sb, Cr, Co, Se în ADN în cursul creșterii sarcomului transplantat M—1, a arătat o variație largă a concentrațiilor majorității acestor elemente, în cursul procesului de îmbolnăvire.

Berg și Burbank (25) au stabilit unele interdependențe între diferite microelemente și tumorile unor organe; astfel ei au găsit valori crescute de Cd, Pb, Ni în tumori ale esofagului și tractului intestinal; As în tumori ale laringelui; Cd, Pb, Be în aparatul urogenital și glandele mamare și Be în tumori osoase. Mulay și col. au pus în evidență o creștere a Cu, Mg, Mn, și Zn în cancerul mamar; concentrația Zn este crescută iar a fierului micșorată în cancerul bronșic; creșteri mai mult sau mai puțin însemnate ale Co, Rb, Se și Zn apar în tumori cerebrale. Valori scăzute ale Zn apar în granulocitele precanceroșilor, cancerul prostatei, iar valori crescute de Ni, Co, Pb, Ag și Al în carcinoame uterine.

Corelarea incidenței cancerului cu conținutul elementelor în urme în mediu înconjurător, sol, apă, aer, alimente, pe zone geografice evidențiază atît importanța factorului de mediu în apariția cancerului cît și posibilitatea instituirii unor măsuri de profilaxie cu eficiență crescută, cu atît mai mult cu cît distribuția unor cancere este corelată cu concentrația în sol a unor elemente ca: Se, Cu, Zn, Cr.

Astfel cercetări recente privind ingerarea prin alimente a seleniului în 27 țări și 17 forme de cancer au arătat o corelație negativă între seleniu ingerat în mg/an/persoană și cancerul tubului digestiv, al prostatei, pulmonar, mamar și în leucemie și una pozitivă în cazul ingerării Zn, Cd, Cu și Cr, ceea ce a dus la propunerea de suplimentare a alimentației cu seleniu în țările supraindustrializate.

În ceea ce privește potențialul cancerigen al metalelor se pare că din punct de vedere teoretic puține din ele nu ar fi cancerigene. Implantante subcutanat sau administrate sub formă de infuzii fine, mai multe metale ca: Cr. Fe, Co, Ni, Cu, Ag, Au, Zn, Cd, Hg, Al, Sn, Pb, Be, Y, precum și unele nemetale ca As, Se, I pot produce cancere; o comportare analoagă au și unii compuși ai metalelor (10, 12). Poziția lor în sistemul periodic poate fi urmărită în fig. 9.1.

Metalele cancerigene au electronegativități cuprinse între 1,2 și 1,9 și tendința mare de a forma combinații covalente și coordinative cu liganzi biologici.

Cromul pulbere și cromații produc cancer pulmonar, al cavității nasale, paranasale, al sinusurilor și al laringelui.

Nichelul metalic și compușii săi (oxid, carbonat, acetat, sulfură, $Ni(CO)_4$ și Ni (ciclopentadiena)), sînt cancerigeni. Produc mai ales cancerul pulmonar și cel al oaselor nazale.

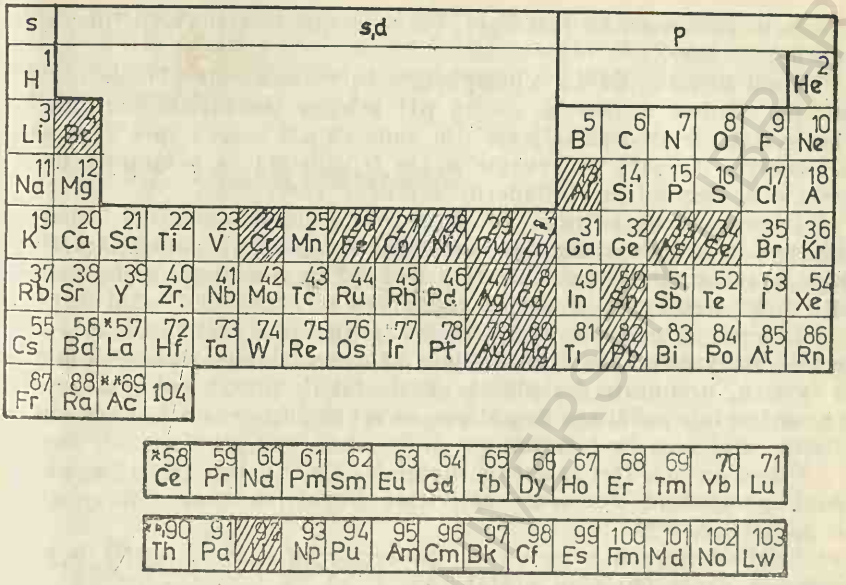


Fig. 9.1. — Elemente cancerigene

B e r i l i u l și compușii săi (oxid, fosfat, silicat, sulfat), implantați sau nu în suspensii i.v., produc sarcoame osoase și cancer urogenital și pulmonar.

P l u m b u l produce cancer renal, gastric, intestinal și ovarian, a r s e n u l cancerul pielei, pulmonar și hepatic, s e l e n i u l în doze peste 10 ppm, cancerul mamar, iar i o d u l cancerul tiroidian. În fine, a s b e s t u l, mineral fibros din grupul amfibolilor sau serpentinului, ingredient indispensabil al multor industrii, produce cancerul bronhopulmonar și mezothelioame ale pleurei.

În cursul procesului de carcinogeneză metalele existente în solvenți „duri", ca de ex. sîngele, se găsesc de obicei în stări de oxidare superioare, în timp ce în solvenți „moi" (lipide sau enzime), în stări mai inferioare de oxidare. În cazul apariției carcinogenezei, Furst (95) presupune că metalele pătrunse în celulele vii, accelerează sau întîrzie cinetica enzimelor anabolice sau catabolice în cadrul unei competiții cu metalele existente normal în celulele respective. Virusurile ar putea facilita pătrunderea în celule a metalelor.

Indiferent de starea lor de oxidare, de natura combinațiilor simple sau complexe sub care se întîlnesc, metalele, sub formă de radio-

elemente emit radiații ionizante, care pot produce mutații încrucișate și final, cancer.

Ionii metalici au un rol important în variațiile de pH ale organismului; celulele tumorale au un pH inferior țesuturilor normale din care cauză ele tind să migreze din zone cu pH scăzut spre regiuni cu pH-neutru. Această proprietate poate fi utilizată ca o metodă de detectare a răspîndirii (întinderii) celulelor canceroase.

Deoarece concentrația în organism a ionilor metalici liberi și cointeresați în hidroxicomplecși este dependentă de pH, variația pH-ului duce la redistribuția lor, care este însoțită de o variație a permeabilității prin membrane și deci a toxicității lor.

În ceea ce privește utilizarea compușilor metalici în terapia cancerului, primul compus utilizat clinic a fost soluția de arseniat de plumb în benzen, preparate din plumb sau fosfat de plumb coloidal precum și arseniatul de sodiu sau de potasiu, ca și compuși organici ai arseniului, ultimii, mai ales în leucemii.

Clinic au mai fost încercate metalele: Cu, Bi, Ru, Ge și Se, penultimul. prezentînd o oarecare activitate împotriva tumorilor spontane ale șoarecilor.

Seleniul pare a avea un rol protector în cancer. Astfel Schamberger și Frost (307) au arătat că:

— mortalitatea datorită cancerului în 20 orașe din U.S.A. este invers proporțională cu conținutul seleniului în sîngele conservat;

— mortalitatea în Canada este redusă în regiunile în care plantele (solul) au un conținut ridicat de seleniu;

— conținutul seleniului în plasma canceroșilor este sub normal.

Date recente (134) au arătat că săruri de Pb(II), Cd(II), Co(II), Cu(II) și Mn(II), cu rol mutagen și cancerigen, micșorează exactitatea (fidelitatea) sintezei ADN-ului în vitro; ele stimulează inițierea lanțului în sinteza ARN-ului la concentrații superioare acelora în care sinteza sa este inhibată.

Sărurile de Zn(II), Mg(II), Li^+, Na^+ și K^+, fără a avea efecte mutagene sau cancerigene, inhibă inițierea lanțului în sinteza ARN-ului, la concentrații în care sinteza să globală, este inhibată.

În cadrul matricelor experimentate, ordinea inhibiției sintezei globale a ARN-ului, dependentă de concentrația ionului metalic, variază astfel: $Pb^{2+} > Cd^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+} > Mn^{2+} > Mg^{2+} > Li^+ > Na^+ > K^+$. Parțial această ordine poate fi explicată pe baza afinităților ionilor metalici respectivi față de bazele purinice și pirimidinice, componente ale acizilor nucleici, comparativ cu fosfații, care variază în ordinea: $Pb^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Mn^{2+} > Mg^{2+} > Li^+ > Na^+ > K^+$.

Ținînd seama de teoria lui Balo și Banga (18), după care metabolismul oxidativ în celulele tumorale este suprimat, au fost sinteti-

azați și testați pe carcinoame Ehrlich la șoareci și la șobolani, ascorbatul de Fe(II), Cd(II), malatul de Mn(II), combinații complexe antioxidante capabile de a stimula mecanismul oxidativ, inhibînd astfel creșterea tumorilor.

9.2. Liganzi cancerigeni

Substanțele capabile de a funcționa ca liganzi pot avea o acțiune cancerigenă sau anticancerigenă, în funcție de condiții și de concentrație. De altfel între fenomenul de chelatare și între agenții cancerigeni sau anticancerigeni există, după Furst (95) o strînsă corelație. Astfel aproape toate substanțale cancerigene pot funcționa ca liganzi în mediu apos sau neapos, direct sau indirect, după metabolizarea lor.

Liganzii cancerigeni sau presupuși cancerigeni cu grupările lor donoare de electroni sînt indicați în fig. 9.2.

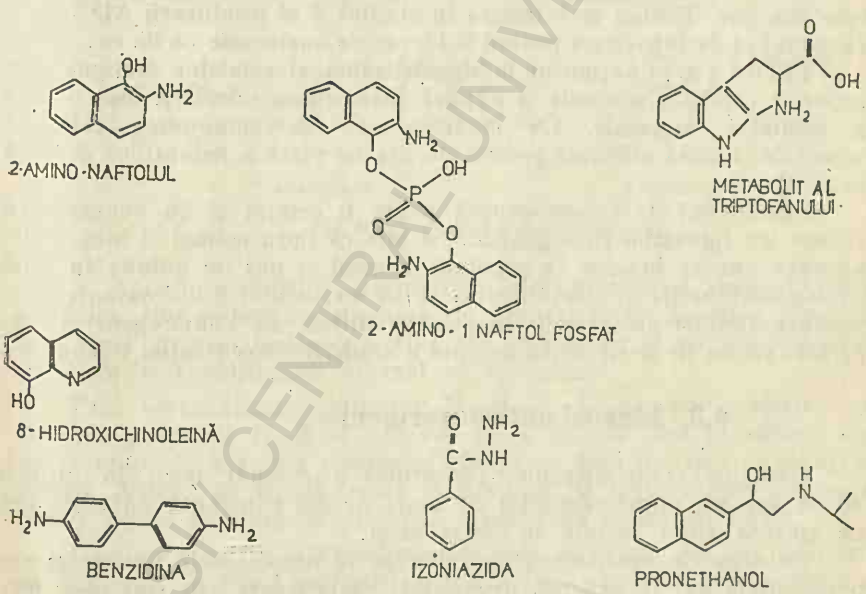


Fig. 9.2. — Liganzi cancerigeni

Moleculele acestor liganzi sînt liposolubile și coplanare și prezintă o capacitate de coordinare însemnată pentru ionii metalici, inclusiv cei esențiali organismelor vii, cu care formează chelați penta sau hexa-

ciclice, stabile, îndepărtîndu-i astfel din locurile specifice înhibării enzimelor.

Deoarece metalele sînt ușor transportate în celule sub formă de chelați liposolubili, iar un ligand cancerigen poate introduce în celule atît metale esențiale cît și metale cancerigene, în celule se pot stabili diferite echilibre între acești ioni metalici și liganzii cancerigeni. În condiții favorabile cancerizării, concentrația ionilor metalici cancerigeni (anormali) poate crește mult, devine predominantă și este însoțită de o perturbare a metabolismului celulelor, însoțit de formarea celulelor neoplazice. Acestea intră în competiție cu celulele normale în ceea ce privește ionii metalici esențiali dezvoltării lor; în cadrul acestei competiții ionii metalici sînt fixați mai ușor de către celulele maligne fie datorită concentrației mai ridicate a moleculelor de ligand, fie capacității lor superioare de coordinare față de celulele normale.

După Holmberg celulele canceroase secretă o toxină polipeptidică a Gly, Cys, Glu, Arg, Val, Leu, Tyr și Ala, cu masă moleculară ≃ 1 900, în concentrații care intoxică celulele normale, fără a afecta pe cele maligne. Toxina ar interfera în stadiul S al producerii ADN, mecanismul ei de intoxicare putînd fi blocat de nucleozide ca de ex. d e o x i c i t i d i n a. Conținutul în deoxicitidină al celulelor maligne este superior celulelor normale și explică intoxicarea selectivă mai ușoară a celulelor normale. La moartea sau descompunerea celulelor tumorale, toxina eliberată reduce durata de viață a hematiilor cu pînă la 20%.

Fenomenul de cancerogeneză poate fi corelat și cu concentrații reduse ale liganzilor în organism. Se știe că lipsa colinei și metioninei produce cancer hepatic la șobolani, șoareci și pui de găină; în mod analog metaboliți ai triptofanului ca de ex. acidul 3-hidroxiantranilic produce tumori ale vezicii. În stadiile ultime ale cancirogenezei, cupremia crește de 2—3 ori ca urmare a scăderii concentrației ligandului.

9.3. Liganzi anticancerigeni

Domeniul chimioterapiei cancerului a evoluat mult în ultimii 30 de ani, un număr deosebit de mare de noi substanțe naturale sau de sinteză fiind testate în acest scop.

Substanțele medicamentoase eficace în neoplasmele umane și experimentele au, în general, proprietăți chelatizante sau sînt ușor metabolizate în compuși cu astfel de proprietăți. Multe din ele reacționează cu acizii nucleici înhibînd sinteza ADN, ceea ce explică modul lor general de acțiune. În scop clinic au fost utilizați antimetaboliții, agenții alchilanți, unii produși naturali (alcaloizi sau antibiotice) și hormoni steroizi.

a. *Antimetaboliții* prezintă o structură asemănătoare cu diferiți metaboliți normali cu care intră în competiție pentru o enzimă. Cei mai importanți sînt cei analogi:

— acidului folic, de ex. metotrexatul care inhibă sinteza purinelor și a ADN;

— bazelor purinice de ex. 6-mercaptopurină, care inhibă sinteza nucleozidelor purinice și a ADN;

— bazelor pirimidinice, de ex. o-fluorouracilul, care inhibă sinteza nucleozidelor pirimidinice și a ADN (fig. 9.3).

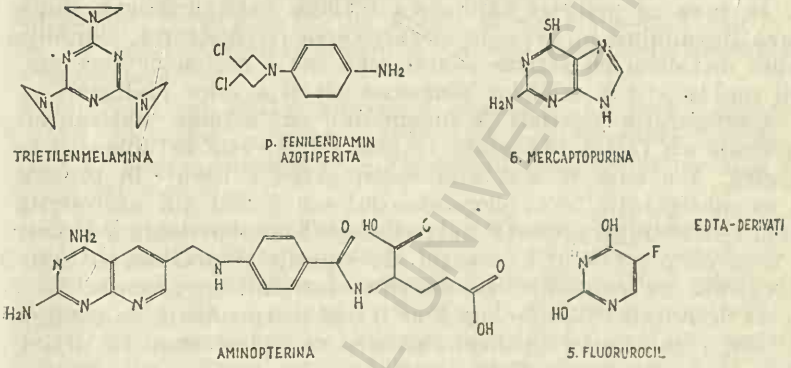


Fig. 9.3. — Liganzi anticancerigeni

b. *Agenții alchilanți,* azotiperitele, etileniminele și derivații etersulfonici, sînt substanțe donoare de grupări alchil reactive, cu care blochează grupări biologice active ale proteinelor și nucleoproteinelor esențiale metabolismului normal al celulelor.

Prin metabolizare, grupările N—C—C—Cl ale azotiperitelor pot trece în grupările N—C—C—O sau N—C—C—N care manifestă tendință mare de a forma complecși stabili cu ionii metalici existenți în soluție. Viteza de transformare în produșii de metabolizare (etanolamina) a fost corelată cu acțiunea terapeutică a azotiperitelor.

Gruparea activă a etileniminelor este analoagă cu cea rezultată în organism în urma ciclizării grupării bis-β-cloretilamină a azotiperitelor. Dintre produșii naturali, actinomicina D, antibiotic, inhibă formarea ADN, iar vincristina, alcaloid din Vinca rosea poate afecta mitoza prin reacția cu grupările —SH.

Hormonii estrogeni, androgeni și steroizii corticosuprarenali sînt eficace față de țesuturile a căror creștere este normală sub control hormonal.

Substanțele anticancerigene, ca agenții de chelatare manifestă de obicei o afinitate superioară față de metalele cancerigene (anormale) existente în organism. Deoarece selectivitatea lor este redusă, ele pot inactiva și unele enzime necesare creșterii rapide sau normale a celulelor.

Utilizînd 6-mercaptopurina ca ligand a unor ioni metalici din clasa *a* și *b* (p. 17) mai ales a Pd(II) și Pt(IV), au fost sintetizate combinații complexe cu acțiune citostatică. Se presupune că în urma acțiunii lor asupra virusurilor, se eliberează ligandul biologic, activ, care inhibă în continuare creșterea celulelor neoplazice.

În ceea ce privește explicarea acțiunii anticanceroase, după formarea ligandului, ar avea loc dezactivarea (sechestrarea, imobilizarea) ionilor metalelor cu acțiune cancerigenă sau a enzimelor necesare creșterii rapide atît a celulelor sănătoase cît și a celor maligne.

Configurația spațială a ligandului cu acțiune anticancerigenă constituie un factor important în ceea ce privește acțiunea sa farmacologică. Așa cum se știe, aminoacizi activi existenți în organismele vii au configurație levo ; clorambucilul sau fenilalanin azotiperita sub forma 1-izomerului prezintă o activitate de 5 ori superioară d-izomerului. În ceea ce privește d, l-izomerul (racemicul) el prezintă o activitate echivalentă cu conținutul 1-izomerului conținut în racemic. În cazul în care activitatea farmacologică ar fi fost independentă de configurația spațială a substanței medicamentoase, ar fi însemnat ca activitatea d, l și aracemicului să fi fost egală.

Dacă în cazul fenil-alanin-azotiperitei (clorambucil) izomerul l este cel mai activ, în cazul aminofenilalanin azotiperitei (aminoclorambucil), d-izomerul constituie forma cea mai activă.

Din valorile căldurilor de formare ΔH_f ale complecșilor izomerilor dextro, levo și a racemicului (d, l) ale histidinei cu ionii Ni^{2+} și Zn^{2+} s-a arătat (253) că formarea complecșilor bis d, l-micști este mai avantajoasă din punct de vedere energetic decît pentru complecșii bis, d—d sau l—l, așa cum prezintă din datele de mai jos. De ex. ΔHf (Zn(d-His)—(l-His))= — 49,2 kJ mol^{-1} ; ΔH_f : Zn(d-His)—(d-His) sau ΔH_f : Zn(l-His)—l(His) = — 47,7 — 8 k J mol^{-1}.

9.4. Chelați metalici cu acțiune carcinostatică și antivirală

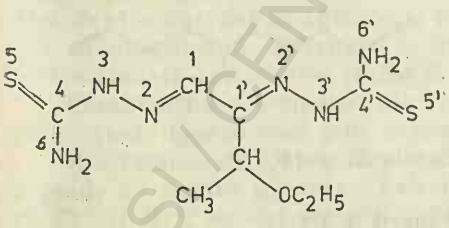
Plecînd de la constatarea că sulfatul de cupru(II) produce o inhibiție semnificativă a vitezei de creștere a tumorilor S_{180} a unor carcinoame experimentale, inclusiv cel Ehrlich, cercetări în vitro au arătat că unele oxime prezintă efecte lezante asupra permeabilității selective

a membranelor celulare tumorale, care cresc în prezența sărurilor Cu(II) sau a Fe(II). Astfel α-cetoglutaratul de fier(II) sau de Cu(II) este activ în doze de 25 mg/ml în timp ce ligandul liber numai în doze de 100 mg/ml. În mod analog metil-glioxima, DMG în doze < 50 mg/kg/zi nu a inhibat tumorile testate, în timp ce chelatul $[Cu(DMG)_2]$ este activ în doze de 5 mg/kg, iar chelații corespunzători ai Ni(II), Co(II), Mn(II) sau Hg(II) sînt fără activitate.

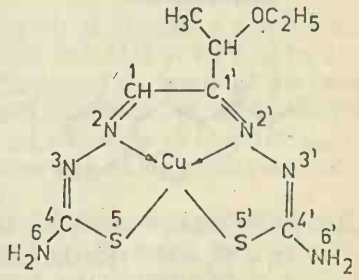
Acțiune carcinostatică prezintă și unii chelați metalici ai tiosemicarbazonelor. Astfel încă din 1956 a fost semnalată acțiunea carcinostatică a piridin 2-carbaldehidtiosemicarbazona. Studiul dependenței activității biologice de proprietățile complexoformatoare a unor tiosemicarbazone N-heterociclice au arătat că ele acționează sub formă tiolică, ca agenți chelatori tridentați, fixînd ionii metalici implicați în carcinogeneză.

Petering și col. (257a) au arătat pentru prima oară dependența activității biologice a unor α-ceto-aldehid-bis-tiosemicarbazone de prezență în hrana animalelor de experiență a unor ioni metalici cum ar fi cuprul sau zincul.

2-Ceto-3-etoxibutiraldehid-bis-tiosemicarbazona (Kethoxal — KTS) piruvaldehid-bis-tiosemicarbazona (PTS) și derivați (77), active asupra unor tumori solide și lichide la șoarece și șobolan, au fost administrate ca atare, asociate cu soluții de $CuSO_4$ și sub forma complecșilor de Cu(II). Efectele complecșilor sînt mai pronunțate decît în cazul bis-tiosemicarbazonei libere, iar studiile lui Sartorelli și col. (277) asupra Cu(II)—KTS au arătat că locul acțiunii acestuia în celulele sarcomului 180 ascitic este sinteza ADN-ului.



9.I



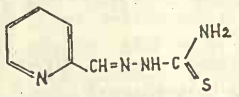
9.II

Structurile cristaline ale compușilor 9 I și 9 II, determinate prin difracție de raze X de către Taylor și col. (320), urmăreau să aducă informații privind unele diferențe stereochimice între ei în scopul explicării creșterii activității compusului II. În urma chelatării, bis-

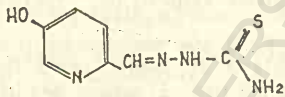
tiosemicarbazona ia o configurație sterică favorabilă probabil acțiunii la nivelul sintezei ADN-ului. În urma formării ciclurilor chelate și a stabilizării chelatului prin „aromatizarea" ciclurilor, acesta va putea ușor înlocui o bază azotată (purinică sau pirimidică) blocînd astfel sinteza ADN-ului.

Complecșii cu Cu(II) ai PTS (21) și KTS au fost testați pe un număr mare de tumori.

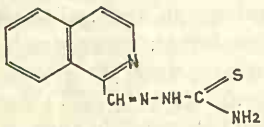
Sinteza și testarea unei serii de complecși ai KTS și derivați cu ioni ai metalelor tranziționale ca Fe(II), Fe(III), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), Co(II), Ag(I) a făcut dovada activității lor carcinostatice ; cele mai pronunțate efecte le-a avut Cu(II)—KTS urmat de Zn(II)—KTS și Co(II)—KTS.



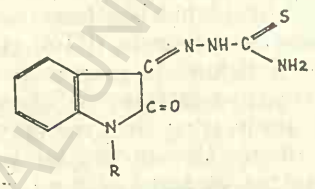
PIRIDIN - 2 - CARBOXALDEHID TIOSEMICARBAZONA



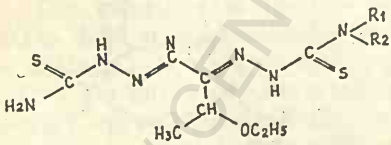
5-HIDROXIPIRIDIN-2-CARBOXALDEHID TIOSEMICARBAZONA

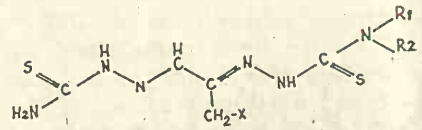


ISOCHINOLEIN - 1 - CARBOXALDEHID TIOSEMICARBAZONA



ISATIN TIOSEMICARBAZONA (R = CH_3, MARBORAN)





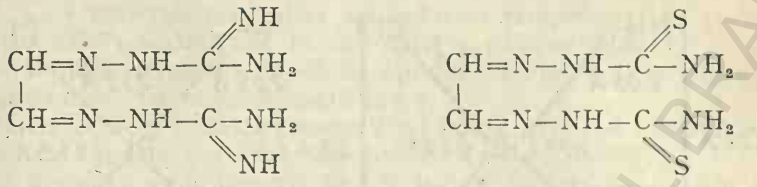
2-ceto-3-etoxibutiraldehid tiosemicarbazona (KTS)

$R_1=R_2=H=$(Kethoxal)
$R_1=CH_3$; $R_2=H$; KTSM(N-metil KTS)
$R_1=R_2=CH_3$; $KTSM_2$(M-dimetil KTS)

Piruvaldehid tiosemicarbazona (PTS)

$R_1=R_2=H$, (PTS)
$R_1=CH_3$; $R_2=H$ (PTSM)
$R_1=CH_3$; $R_2=H$; $X=OC_2H_5$ (EPTPSM)

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



guanil-hidrazona glioxil-bis-tiosemicarbazona

Fig. 9.4. — Tosemicarbazone anticanceroase și antivirale

Este interesant de remarcat în ceea ce privește activitatea anticanceroasă și antivirală a unor tiosemicarbazone (fig. 9.4) și a complecșilor lor metalici, că în majoritatea cazurilor acestea funcționează ca liganzi multidentați și că efectul de chelatare mărește atît biodisponibilitatea cît și efectul terapeutic. Ionii metalici cei mai favorabili sînt cei din clasa b sau cu caracter intermediar, dat fiind faptul că atomii donori ai ligandului sînt N și S care conferă complexului liposolubilitate.

9.5. Combinații coordinative cu activitatea antitumorală

9.5.1. Complecșii Pt (II)

Activitatea antitumorală a combinațiilor coordinative ale Pt(II) pare a fi limitată la cele de tipul $[PtA_2X_2]$, fără sarcină electrică și este caracteristică izomerilor cis.

Stereochimia cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ cît și lungimea și valoarea unghiurilor legăturilor respective sînt indicate în 9.IIII și 9.IV. și fig 9.5. În cadrul izomerilor cis și trans ai Pt(II), izomerul cis poate să prezinte sau să nu prezinte activitate antitumorală; aceasta nu se întîlnește însă niciodată la izomerul trans, fără ca cel cis să fie și el activ.

Combinațiile coordinative ale Pt(II) cu sarcină electrică sînt inactive, chiar dacă liganzii sînt ușor schimbabili.

Activitatea antitumorală a complecșilor Pt(II), de tipul $[PtA_2X_2]$, depinde de natura liganzilor. Cele mai bune rezultate au fost obținute cu Cl^- și Br^-, liganzi anionici monodentați, cu capacitate de schimb intermediară și cu anionii oxalat și malonat, liganzii carboxilați bidentați, în ceea ce privește natura anionilor, cu molecule de amoniac, și de diamine cliclice saturate în ceea ce privește pe cea a aminelor. Prin urmare cis-diclorodiaminoplatina(II), cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, cunoscută și sub denumirea de sarea lui Peyrone, introdusă în terapeutică de către Rosenberg și Van Camp (272), prezintă cea mai ridicată activitate antitumorală.

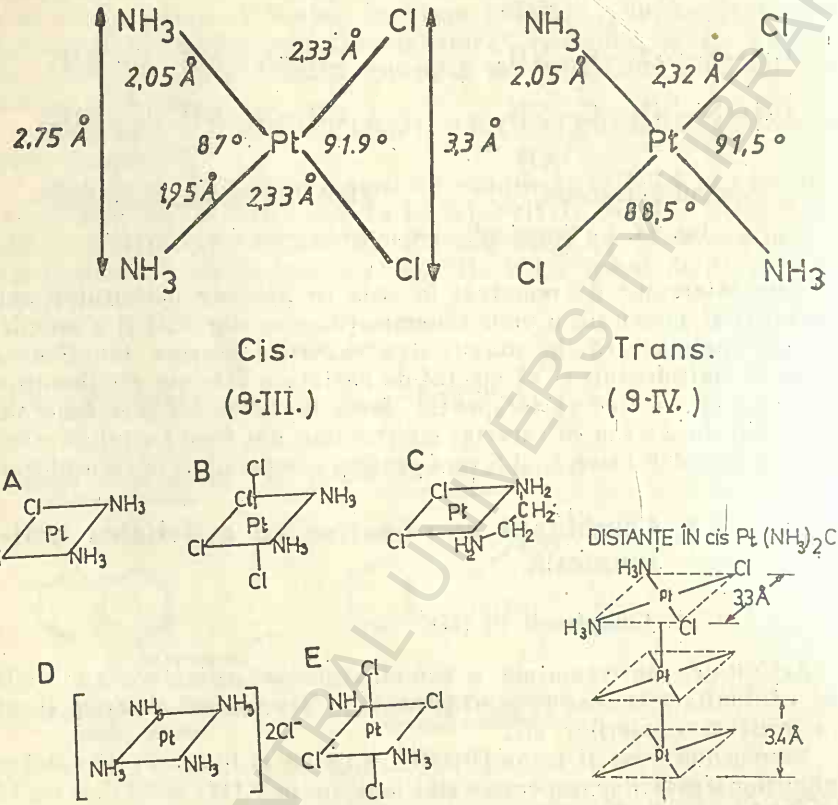


Fig. 9.5. — Formula structurală a complecșilor platinei; Fig. 9.5a. — Distanțe interatomice în cis Pt(II).

Substituirea a 1—3 atomi de hidrogen din molecula amoniacului cu molecule de amine duce la micșorarea activității. Astfel din datele de literatură (51, 152) înlocuirea moleculelor de amoniac din cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ cu amine alifatice inferioare, primare sau secundare, substituite sau nu cu metil, etil, clor sau hidroxietil, isopropilamina sau cu amine primare cu substituenți aliciclici de tipul $C_nH_{2n-1}NH_2$, (în care $n = 3-8$), dau produși care asupra tumorilor ADJ/PC_6, (deosebit de sensibile în detectarea răspunsului activitate-structură chimică), au următoarele aspecte :

— O creștere a parametrilor terapeutici, în cazul înlocuirilor cu o amină primară cu un substituent aliciclic organic sau a substituirii a 1—2 atomi de hidrogen din amoniac cu grupări alchil sau fenil.

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

— Cele mai ridicate valori ale indicelui terapeutic (IT) (> 267, respectiv 235,7) se întîlnesc la ciclohexil și ciclopentilamina.

— Indicele terapeutic scade de aproximativ 100 ori, la înlocuirea ciclohexilaminei cu ciclohexilmetilamina.

Dintre aminele aromatice o-fenilendiamina și 4—5 dimetil-o-fenilendiamina prezintă o bună selectivitate față de ADJ/PC_6.

— Prezența unor legături Pt—N incluse într-un heterociclu sau un aliciclu care să formeze un complex chelat cu Pt(II), este însoțită de creșterea IT și conferă complexului o activitate și o slectivitate avansată.

— Iso-alchilaminele primare, măresc selectivitatea compusului, cea mai ridicată întîlnindu-se la izoamilamina, cu IT > 125.

— Nu există nici o relație între tendința de schimb (labilitatea) aminoliganzilor și proprietățile antitumorale ale complexului.

În medii biologice bogate în apă și compuși care conțin grupări nucleofile OH^-, $R—NH_2$, RS^- sau $R—S—CH_3$, izomerii cis și trans ai $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ participă la reacții de substituții în urma cărora ionii de clorură sînt înlocuiți, formînd complecși cu stabilitate superioară.

Mecanismul reacției de substituție, în soluție apoasă, este indicat în fig. 9.6 și poate avea loc cu participarea solventului S și formarea unui compus intermediar sau direct.

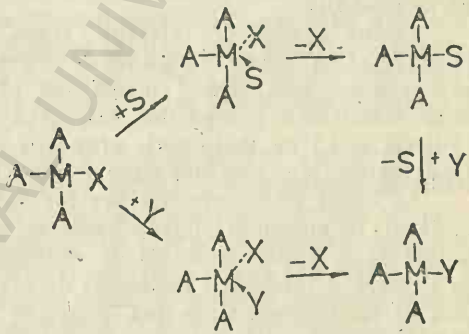


Fig. 9.6. — Mecanismul de substituție în complecși, Pt (II), [21]

În soluția apoasă a izomerilor cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ se stabilesc următoarele echilibre (265).

$$[Pt(NH_3)_2Cl_2] + H_2O \rightleftarrows [Pt(NH_3)_2Cl(H_2O)]^+$$
$$+H_2O$$
$$+ Cl^- \rightleftarrows [Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^+ + Cl^-$$

a căror constante K_1 și K_2 ca și concentrațiile celor trei specii de molecu le complexe, aflate în soluție, au fost calculate de către Reishus și Martin (265).

Cercetări efectuate cu ajutorul radioelementelor au indicat că între ionul Cl^- și $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ nu are loc nici un schimb, în timp ce între $[Pt(NH_3)_2Cl(H_2O)]^+$ și $[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$ schimbul se efectuează, ceea ce sugerează că reacția de substituție are loc cu participarea solventului, adică prin intermediul produsului hidrolizat. — Înlocuirea

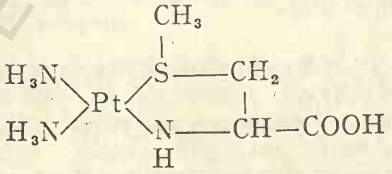
ionului Cl^- cu molecule de apă, în aceste condiții, are loc cu o viteză redusă, $t_{1/2}$ pentru ambii izomeri fiind de 10 ore.

Cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ formează în soluție apoasă, în prezența ionilor Ag^+ cis și trans $[Pt(NH_3)_2H_2O)_2]^{2+}$, care prin cedare de protoni trec în mono și dihidroxiderivații respectivi: $[Pt(NH_3)_2(H_2O)(OH)]^+$ și $[Pt(NH_3)_2(OH)_2]°$. În apă la pH = 6,5 și o concentrație zero în ioni Cl^- vor avea loc reacțiile speciilor $[Pt(NH_3)_2(H_2O)(OH)]^+$. În cazul în care ionul Cl^- rezultat în urma reacției de substituție de către apă, nu este îndepărtat, în soluția apoasă a cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ vor exista speciile: $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, $[Pt(NH_3)_2Cl(OH)]$ și $[Pt(NH_3)_2(H_2O)(OH)]^+$. În ambele cazuri liganzii H_2O, HO^- sau Cl^- pot fi înlocuiți direct numai de către liganzi cu afinitate superioară față de Pt(II), cum sînt liganzii cu sulf sau azot.

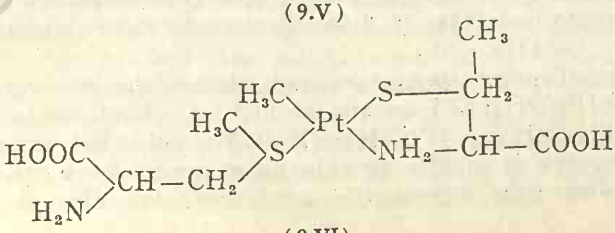
Într-un mediu bogat în cloruri, ca serul fiziologic izotonic, predomină speciile de $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, substituția ionilor clorură neputînd avea loc decît în prezența unor liganzi avînd ca atomi donori sulful. În urma reacțiilor de substituție, stereochimia combinațiilor complexe ale Pt(II), nu se modifică.

Ținînd seama de efectul trans, moleculele de amoniac din $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, inerte din punct de vedere cinetic, pot deveni labile numai sub acțiunea unui ligand cu sulf sau al ionului cianură CN^- și afectează doar labilitatea compușilor cis. Așa de exemplu la tratarea trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ cu metionină, grupările amino nu sînt afectate deoarece transactivitatea celor doi liganzi este $Cl^- > NH_3$.

În cazul izomerului cis are loc substituirea ambilor ioni Cl^- cu o moleculă de metionină, ligand bidentat, cu formarea compusului (9.V), care la tratare cu o nouă moleculă de metionină formează complexul (9.VI), ca urmare a labilizării moleculei de NH_3 din trans de către atomul de sulf al metioninei. Gruparea amino în trans față de gruparea amină a metioninei nu este labilizată.



(9.V)



(9.VI)

BCU IAȘI / CENTRUL UNIVERSITAR

O acțiune analoagă de labilizare în trans numai a cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ are loc și sub acțiunea a 6-mercaptopurinei.

În general efectul trans al unui ligand L se manifestă prin creșterea legăturii Pt—X, descreșterea frecvenței vibrației de valență, respectiv a tăriei legăturii, pentru ligandul situat în trans față de el și de scăderea pK_a.

În complecșii cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_4]$, moleculele de amoniac au o labilitate ridicată și neexplicată ; ei sînt ușor reduși la un potențial apropiat de zero volți la cis și trans $[Pt(II)\ (NH_3)_2\ Cl_2]$, reacție care ar putea constitui o explicație a bioactivității lor în medii biologice.

9.5.1.1. Interacțiuni ale combinațiilor complexe ale platinei cu liganzi biologici

Cercetări efectuate cu ajutorul radioelementelor au arătat că $[PtCl_6]^{2-}$, compus cu acțiune bactericidă este fixat aproape în totalitate de către proteine, în timp ce $[Pt(IV)\ (NH_3)_2Cl_4]$ de fracțiuni ale acizilor nucleici sau de către metaboliți intermediari ai acestora (aminoacizi, peptide, polinucleotide). Lipidele fixează cantități foarte mici din ambii complecși Cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ produce profagi din bacteriile lisogene și inhibă selectiv, în concentrații de 5 μ M, sinteza ADN-ului din celulele amniotice umane AV_3. Izomerul trans produce aceste efecte numai în concentrații mari.

Cercetări spectrofotometrice au arătat că atît în cis cît și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ interacționează cu bazele purinice și pirimidinice ale ADN-ului, dar nu și cu desoxiriboza și grupările fosfat, substituind cel puțin un ion clorură din complex. Mansy și col. (197 a) au urmărit spectrofotometric locurile de legare ale Pt(II) din cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ în moleculele nucleozidelor, iar Robins (269) a cercetat cinetica reacției dintre nucleozide și complexul antitumoral marcat $[Pt(II)\ (^{14}C\text{-en})\ Cl_2]$, utilizînd metoda cromatografică pentru separarea compușilor. Din interpretarea datelor experimentale obținute, autorii citați au ajuns la următoarele concluzii în legătură cu locurile și modul de legare al Pt(II) în moleculele bazelor purinice și pirimidinice ale nucleozidelor.

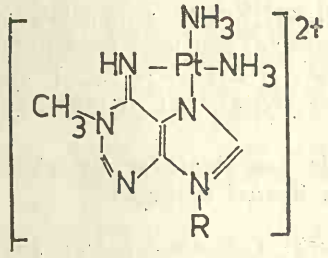
— Adenozina formează cu cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ un complex chelat 1 : 1, în care sînt implicați atomii de azot ai grupării 6-NH_2 și N_{-7} pentru legarea Pt(II) (9.VII) ; izomerul trans formează un complex nechelat în care Pt(II) este legată de N—C (9.VIII).

Atomul de azot din poziția unu, N_{-1} al adenozinei constituie o poziție deosebit de favorabilă pentru legarea Pt(II) a ambilor izomeri în cazul cînd ea este liberă, neblocată.

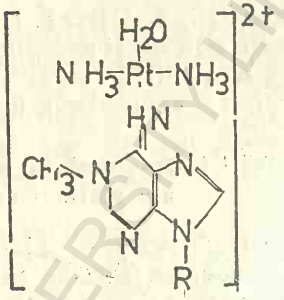
— Spectrele de absorbție în UV ale sistemelor cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ — guanozină și 1-metilguanozină sînt identice ; blocarea

prin metilare a N_{-1} afectează, în slabă măsură legarea Pt(II) a ambilor izomeri.

— Implicarea grupării 7-metilguanozinei la legarea izomerilor cis și trans ai $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ nu este pe deplin elucidată ; este confirmată radiochimic dar infirmată spectrofotometric.



9.VII



9.VIII

— Asemănarea spectrelor de absorbție în UV ale guanozinei cu cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ constituie o indicație că nu are loc, în cazul izomerului cis, formarea unui chelat la care să participe N_{-7} și gruparea $ceto_{-6}$, așa cum ar fi de așteptat. Cercetări recente ale lui Thomson și Roos (270) ultilizînd spectrometria de masă lasă să se întrevadă formarea unui astfel de chelat, guanozina constituind în ADN, baza care este cel mai rapid legată de Pt(II).

— Inozina reacționează cu ambii izomeri ai $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, în mod analog guanozinei, ceea ce sugerează că gruparea $2\text{-}NH_2$ a guanozinei constituie un loc important de legare al platinei.

— Citidina reacționează cu ambii izomeri ai $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, în timp ce 3-metilcitidina nu reacționează, ceea ce indică că poziția N_{-3} este atacată, fapt confirmat și prin determinări de pH. Analogia spectrelor UV ale ambilor izomeri constituie un indiciu că nu are loc formarea unui complex chelat cu izomerul cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$.

Gruparea $4\text{-}NH_2$ a citidinei poate fi implicată într-o legătură în cazul în care citidina este o componentă a unui dinucleotid.

— Spectrele UV ale uridinei și timidinei, nucleozide ale bazelor pirimidinice uracil și tiamină, cu cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ nu indică existența unei reacții, dovadă a blocării N_{-3} de către un proton puternic legat (pK_a tiaminei = 9,8). Dealtfel antimetabolitul 5-fiouracilul (FU) reacționează cu cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ numai la un pH ridicat (0,14 N LiOH), cînd unii din protonii FU au fost îndepărtați și formează cis și trans $[Pt(FCl)_2(NH_3)_2]$, precipitate albe, în care grupările FU sînt

atît de puternic legate de Pt(II) încît ele nu sînt substituite la fierbere de ionii iodură, I^-. 5-Fluoruracilul ar funcționa ca un ligand monodentat, legătura realizîndu-se probabil, prin intermediul atomului de azot, două molecule de FU substituind doi ioni de clorură.

— Cinetica reacțiilor bazelor purinice și pirimidinice cu cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ este de ordinul doi și are loc formarea unui complex în care raportul Pt(II) : bază $\simeq$ 1, cu excepția ATP, la care raportul Pt : bază = 2(36, 39). Reacțiile au loc cu viteze variabile, cele mai rapide se întîlnesc la guanozină și derivații ei, exceptînd adenozin-5-monofosfatul, care reacționează abia după 2 ore.

— Grupările care însoțesc bazele purinice sau pirimidinice în nucleotide (nucleozide) influențează viteza de reacție. Astfel riboza și deoxiriboza cresc viteza de reacție a guanozinei de aproape 10 ori, datorită, probabil, unui efect steric derivat din prezența grupărilor alchil la N_{-9} sau N_{-7} sau unui efect electronic.

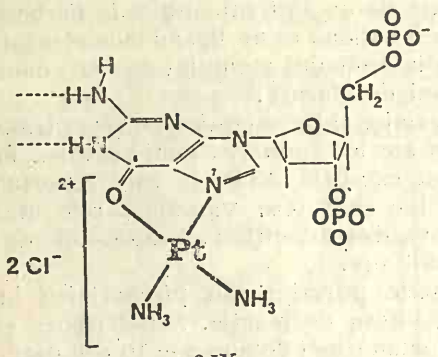
Viteza de reacție a adeninei nu este influențată de componenta glucidică, probabil datorită faptului că legarea ionului metalic are loc în celălalt ciclu, la N_{-1} și între 6-NH_2 și N_{-7}.

— Gruparea monofosfat produce o creștere a vitezei de reacție ; ionul Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+} leagă, probabil, în mod simultan atît ionul fosfat cît și poziția N_{-7} a adenosin-5'-monofosfatului. La adăugarea ulterioară de fosfat la ATP, viteza de reacție scade, datorită interacțiunii preferențiale a izomerului cis al platinei față de grupările trifosfat.

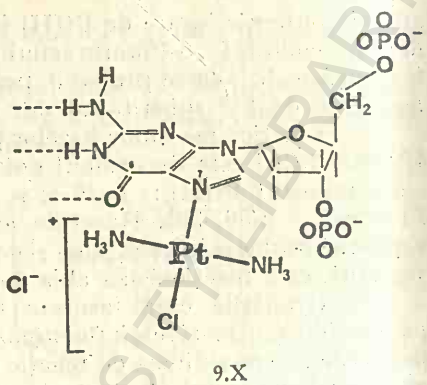
— Chimia interacțiunilor cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ cu oligonucleotide, studiată prin metode diferite, inclusiv spectrele de raze X și dicroismul circular, indică existența mai multor locuri libere în cadrul moleculelor bazelor purinice și pirimidinice care ar putea interacționa cu platina. Modurile de legare ale celor doi izomeri ar putea fi diferite numai în cazurile în care ar exista poziții libere care să permită formarea unor cicluri chelate, ca în cazul adenozinei, cu participarea N_{-7} și a grupării 6-NH_2. În mod analog grupările amino a două baze adiacente, ca de exemplu cele ale ciclurilor adenozinei din dinucleotidina adenazin-3'-fosfat-5'-adenozina, A 3'p5'A, ar favoriza formarea unui compus chelat cu izomerul cis al $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$; ciclurile adeninice și cele de guanină cu grupări fosfat libere sînt ușor fixate de către cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ (9—IX, 9-X).

Studiul unor modele ale dinucleotidelor A3'p 5'A și A3' p5'C, indică următoarele locuri posibile de legare a cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$: a) Grupările 6-NH_2 ale ambelor baze ; b) grupările N_{-1}(3') și 6-NH_2 (5') și c) grupările 6-NH_2(3') și N_{-7} (5') în cazul A3'p 5'A și grupările a) N_{-1}(3') și 4-NH_2 (5') și b) 6-NH_2 (3') și 4-NH_2(5') în cazul dinucleotidului A 3' p 5' C.

Natura bazelor purinice și pirimidinice care reacționează în vivo cu cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, locurile și modul de legare al Pt(II), consti-



9.IX



9.X

tuie o problemă de mare importanță în elucidarea mecanismelor de acțiune ale combinațiilor complexe medicamentoase ale platinei.

Interacțiunile cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ de către aminoacizi și proteine au fost studiate de către Thomson și colab. (323).

9.5.1.2. Mecanismul acțiunii antitumorale a complecșilor Pt(II)

Afirmația lui Haddow (118) după care „agenții care produc cancer îl și vindecă", nu pare a fi general-valabilă. Astfel substanțele cancerigene și anticancerigene se deosebesc în același mod ca substanțele mutagene de cele fag-inductoare. Diferența constă atît în ceea ce privește tăria (intensitatea) legăturilor încrucișate formate cît și în modalitatea lor de legare. Substanțele capabile de a forma ușor legături încrucișate au proprietăți mutagene slabe, dar sînt buni inductori, în timp ce substanțele cu proprietăți mutagene însemnate, nu posedă proprietăți inductoare. Complecșii Pt(II) sînt inductori puternici și mutageni slabi.

Substanțele anticancerigene, deși opresc sinteza ADN-ului integral, ele nu produc mutații sau cancer, în timp ce substanțele cancerigene, în general cele mutagene, acționează asupra ADN-ului, fără a opri însă, în nici un sens, sinteza lui. Majoritatea substanțelor care acționează asupra ADN-ului prezintă o tendință redusă de a forma legături încrucișate. Dealtfel orice substanță chimică capabilă să interacționeze cu lanțurile ADN-ului, este un agent de legare încrucișată. Natura forțelor chimice interesate în astfel de legături variază de la forțe van der Waals, prin legături de hidrogen și legături ionice, la legături covalente.

Complecșii platinei (II) formează legături încrucișate puternice, care se deosebesc de cele realizate între lanțurile ADN-ului și unii ca-

tioni, ca de exemplu $[Mg(H_2O)_6]^{2+}$, care sînt esențiale pentru reproducerea ADN-ului

Acțiunea antitumorală a complecșilor Pt(II) s-ar datora producerii unor leziuni primare care ar inhiba în mod selectiv sinteza ADN, cis și (trans)$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, legîndu-se ușor de azotul bazelor purinice și pirimidinice, centrii ocupați fiind favorabili fixării protonului.

Studiind încorporarea precursorilor marcați ADN (timidină — ^3H), ARN (uridină — ^3H) și proteină (L-leucină — ^3H) în prezența cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, în celule amniotice umane AV_3, Harder și Rosenberg (144 a) au constatat că sinteza ADN-ului a fost inhibată la concentrații ale platinei $\leqslant 5$ μM. La concentrații mari sinteza ADN-ului a fost inhibată mai rapid decît sinteza ARN-ului și proteinelor; după 24 h sinteza ADN—ARN și a proteinelor a fost complet inhibată

Cercetări analoage pe tumori ascitice Erlich, îndepărtate de la șobolani, au arătat că cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ inhibă în concentrații de 100 μM, sinteza ADN, ARN și a proteinelor.

După Howle și col. (46), cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ ar acționa în două faze după schema $A \rightarrow B \rightarrow C$, unde A = cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, B = $[Pt(NH_3)_2Cl]^+$, complex cationic neselectiv în sinteza ADN-ului, ARN-ului sau a proteinelor și $C = [Pt(NH_3)_2]^{2+}$, complex care se formează lent și este selectiv în sitenza ADN-ului.

După Rosenberg și col. (144 a) în transformarea $A \rightarrow B \rightarrow C$, B este compusul la care sinteza ADN-ului este selectiv sensibilă, în timp ce C este neselectiv. Din punct de vedere chimic toți complecșii A, B, C ai Pt(II) interacționează la fel de ușor cu centrii nucleofili din molecula ADN, ARN-ului și a proteinelor (în special cele cu sulf).

În inhibiția lentă a sintezei ADN-ului trebuie să se țină seama de transportul complexului Pt(II) prin membrană celulară și de variația ionilor de clorură, care inhibă reacția cis- $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$. Concentrația ridicată a ionilor Cl^- din ser protejează, cel puțin parțial, complexul înainte de a pătrunde în celulă; concentrația ionilor de Cl^- din citoplasmă fiind destul de ridicată, viteza de reacție este destul de mică. O concentrație redusă în Cl^- a nucleului permite o reacție preferențială cu ADN-ul. De altfel structura ordonată a ADN-ului cu bazele sale paralele planare permite complecșilor plan patratici (hibridizare dsp^2) ai Pt(II) să formeze asociații puternice înainte de a acționa.

Acțiunea complecșilor Pt(II) asupra ADN-ului poate fi asemuită cu cea a agenților alchilanți bifuncționali, substanțe antitumorale cu spectru larg, a căror bioactivitate are loc prin legarea cu lanțurile opuse ale ADN-ului prin intermediul N_7 al guaninei.

Robert și Pascoe (268) au demonstrat formarea unor legături între catene în ADN-ul celulelor Hela, în culturi de țesuturi tratate cu cis-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$. Utilizînd ADN-ul marcat, s-a arătat că la o concentrație

de aproximativ 3 μM complex al Pt(II), circa 0,2% din ADN formează legături intercatenare. Procentul de intercatenare al catenelor grele și ușoare depinde de masa moleculară a ADN-ului izolat; valoarea reală a intercatenării este de ≃2%.

Capacitatea complecșilor Pt(II) de a inactiva bacteriofagii s-ar datora formării de legături intercatenare. În concentrații mici cis și trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ și $[Pt(en)Cl_2]$ inactivează T_7, un fag ADN dublu înfășurat și R_{17}, un fag al ARN-ului simplu înfășurat.

În vederea aplicării clinice a cis- $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ au fost efectuate numeroase cercetări. Utilizat clinic, în numeroase tipuri de neoplasme, cis-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, deși s-a dovedit un bun agent în terapeutica cancerului, prezintă o toxicitate însemnată, ceea ce împiedică generalizarea aplicării lui în toate formele cancerului.

Determinarea activității antitumorale, în vitro, se face cu ajutorul testului de filamentare, bazat pe încetarea diviziunii celulare a bacilului Escherichia coli, tulpina Bruxelles cu dezvoltarea bacilului la filamente lungi, iar în vivo, față de unele tumori dezvoltate la animale de experiență. Se consideră active substanțele la care raportul procentual T/C dintre tipul mediu de supraviețuire a animalelor tratate (T) și timpul mediu de supraviețuire a lotului martor C, este ⩾ 150% (345).

9.5.2. Complecși ai altor metale tranziționale

În general, pentru stările de oxidare ale celor trei serii de metale tranziționale *d* cu aceeași configurație electronică, inerția de substituție crește în ordinea : seria I < seria II < seria III. Dealtfel dintre metalele de tip *d*, esențiale organismelor vii, numai molibdenul nu face parte din seria I.

Se pare că inerția ridicată a complecșilor, ionilor metalelor tranziționale de tip *d* seria II și III constituie un impediment însemnat în îndeplinirea unor funcții metabolice. În cadrul aceleiași serii, contribuția energiei cîmpului cristalin la activarea energiei necesare complecșilor octaedrici, prezintă următoarea ordine de inerție : d^6 (spin minim) > d^3 > > d^4 (spin minim) > d^5 (spin minim). Comparativ cu aceste configurații, sistemele d^0, d^1, d^2, d^5, d^6, și d^7 cu spin maxim sînt de fapt, relativ labile. Complecșii seriei I a metalelor tranziționale, cu spinul maxim, prezintă de obicei o labilitate ridicată, exceptînd Co (III) (d^6) cu spin minim și Cr (III) (d^3).

În condiții fiziologice sistemele de mai jos, potențial utilizate din seria metalelor platinice : Rh(III), Rn(II), Ir(III), Pt(IV) (d^6) ; Rh(III) (d^5) ; Os(IV) (d^4) ; Mo(III), W(III) și Re(IV) (d^3), sînt relativ nestabile și pot hidroliza.

După Thomson și col. (323) sistemele biologice acționează la un potențial redox scăzut, din care cauză multe metale tranziționale se găsesc la stări inferioare de oxidare: Os(II), Rh(II), Pt(II), Pd(II), în loc de Os(III), Rh(III), Pt(IV), Pd(IV). Dealtfel introducerea unui ion metalic într-o stare de oxidare superioară ar putea constitui un avantaj în limitarea capacității de transport a celulei.

În condiții fiziologice este posibilă reducerea complecșilor Au(III) cu configurație plan pătratică la complecși ai Au(I) cu configurație liniară sau tetraedrică și oxidarea complecșilor Rh(I) și Ir(I) la Rh(III) și Ir(III). Comparativ vitezele de reacție ale compușilor Ni(II), Pd(II) și Pt(II) se găsesc în raporturi aproximative de $5 \times 10^6 : 10^5 : 1$ (66). Complecșii Au(III) reacționează mult mai ușor comparativ cu cei ai Pd(II). Indiferent de starea de oxidare a ionului metalic, liganzii afectează stabilitatea și proprietățile cinetice ale complecșilor prin efectele lor diferite de scindare. Metalele tranziționale mai grele, cu caracter de clasă „b" sau intermediar (p. 14) formează combinații complexe stabile, mai ales cu molecule având ca liganzi atomii donori ai elementelor cu *Z.* superioare din grupele V, VI și VII. Ordinea de descreștere a stabilității lor la concentrații egale ale liganzilor este: $S \sim C > I > Br > Cl > N > O > F$.

În literatură sînt descrise o mulțime de complecși ai Pd(II, IV) Rh(III), Ir(III) Ru(III), Co(II), (III), Ni (II) și Au (III) cu potențială acțiune anticancerigenă.

BIBLIOGRAFIE

2, 4, 17 a, 18, 20, 21, 25, 33, 51, 53, 56, 61, 82, 95, 96, 98, 101, 103, 118, 130, 134, 140, 143, 144 a, 149, 152, 153, 164, 170, 172, 181, 190, 197 a, 224, 229, 253, 257 a, 265 268, 269, 270, 271, 272, 277, 307, 312 a, 320, 321, 323, 324, 327, 328, 343, 345, 365, 366, 371, 372, 374, 378.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

10

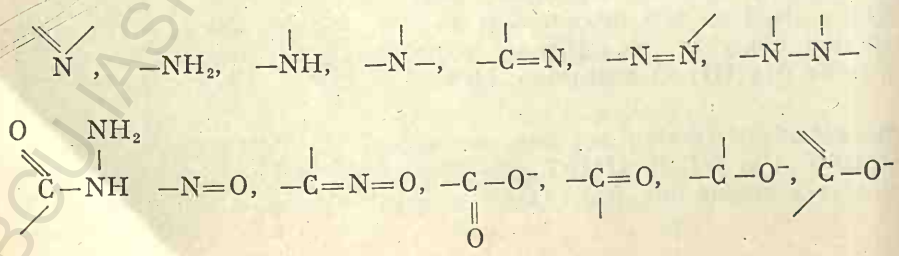
LIGANZI, COMBINAȚII COMPLEXE ȘI CHELATE ÎN BIOLOGIE ȘI MEDICINĂ

10.1. Generalități

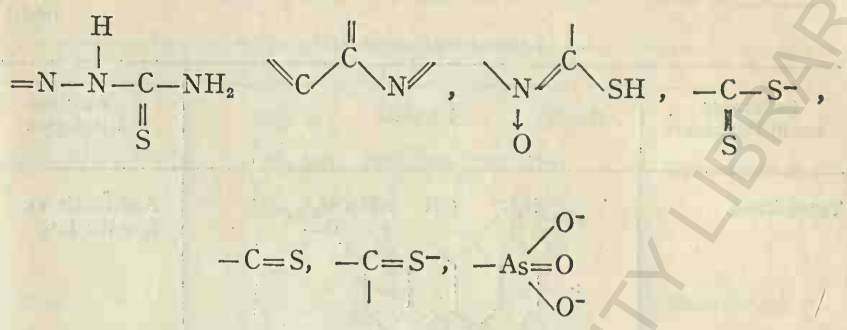
Studiul structurii și al rolului biologic al combinațiilor complexe și al chelaților metalici (metaloporfirine, clorofila, citocromii și alte hemine naturale, vitamina B_{12}) au dus la intensificarea cercetărilor în direcția utilizării unor substanțe organice medicamentoase ca liganzi în chimia coordinativă; în vederea aplicării lor în biologie și medicină. Așa cum am arătat (cap. 1), moleculele neutre sau anionii mono- sau poliatomici care dispun de una sau mai multe perechi de electroni neparticipanți, pot funcționa ca liganzi mono- sau polidentați, ultimii formînd complecși cu structură ciclică, cunoscuți sub denumirea de c h e l a ț i.

În general, toate moleculele care conțin grupări cu legături mai bazice decît legătura C—H pot funcționa ca donori de electroni. Multe substanțe, componente de bază ale organismelor vii ca: aminoacizi, peptide, proteine, nucleoproteine, acizi nucleici, hormoni, lipide, glucide, diferiți anioni, apa, pot funcționa ca liganzi conținînd în moleculele lor ca atomi donori de electroni atomii de azot, oxigen, fosfor, sulf, seleniu, arsen, stibiu, fluor, clor, brom, iod sau chiar carbon.

Un număr însemnat de substanțe medicamentoase (tabelul 19) se comportă în vitro sau în vivo ca liganzi, formatori de chelați, avînd ca grupe donoare de electroni, mai frecvent întîlnite, grupările:



BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Liganzii medicamentoși își manifestă acțiunea lor chelatizantă în afara sau în interiorul celulelor. Prima grupă de liganzi se referă la cei utilizați ca antidoturi în intoxicații cu ioni metalici (p. 268). Liganzii care acționează în interiorul celulelor trebuie să dispună de un grad oarecare de liposolubilitate necesar traversării membranei celulare.

In vivo, liganzii intră în competiție pentru un anumit ion metalic cu o gamă largă de alți liganzi, din care cauză extrapolarea în vivo a comportării lor în vitro, trebuie făcută cu discernământ. Pe de altă parte acțiunea farmacologică poate fi uneori atribuită inhibiției enzimatice ca urmare a fixării ionului metalic esențial enzimei, sub formă de compus chelat cu stabilitate superioară. Așa de ex. disulfura de tetraetiltiuram (disulfiramul), utilizat în tratamentul alcoolismului cronic, inhibă aldehid-oxidaza, oprind astfel metabolizarea alcoolului la acetaldehidă (proces însoțit de efecte neplăcute).

Conformația moleculei liganzilor medicamentoși și capacitatea lor de a se combina cu receptorii influențează, în mare măsură, efectul terapeutic. În general prezența liganzilor favorizează solubilitatea și trecerea compusului prin membrana celulară, deoarece ionul metalic încărcat electric devine prin chelatare o specie fără sarcină electrică, care traversează mai ușor biomembranele.

Utilizarea unor liganzi, agenți de chelatare sau combinații complexe în medicină și biologie vizează mai multe scopuri, dintre care menționăm :

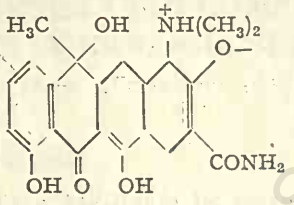
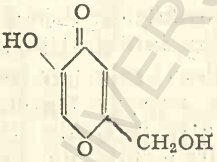
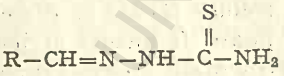
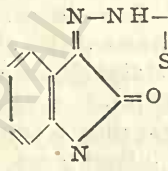
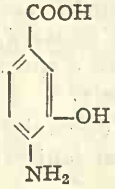
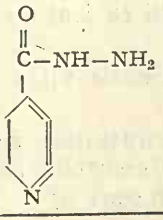
1. Antidoturi în intoxicații cu ioni metalici sau cu acid cianhidric sau cianuri.

2. Introducerea în organismele vii a unor ioni metalici esențiali deficitari.

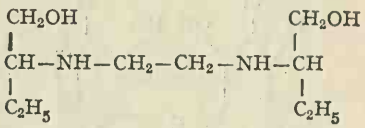
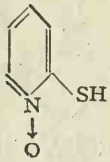
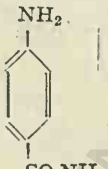
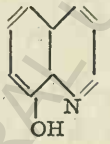
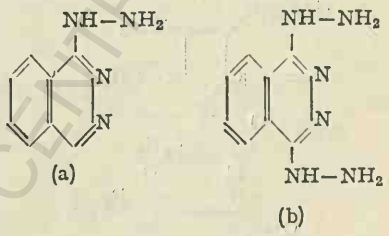
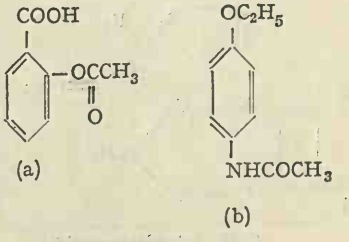
3. Privarea bacteriilor, virusurilor sau a sistemelor enzimatice microbiene de microelemente esențiale activității lor sau furnizarea de metale toxice agenților patogeni.

Tabelul 19

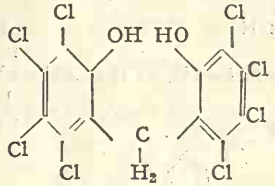
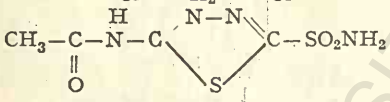
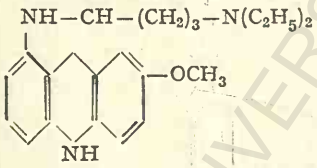
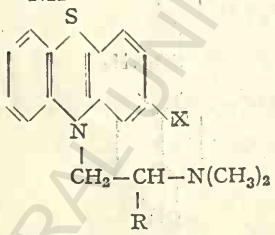
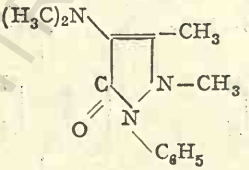
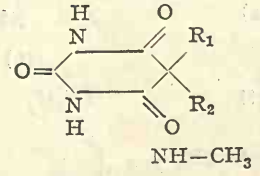
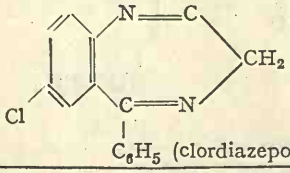
Liganzi medicamentoși

Substanțe medicamentoase	Formulă	Acțiune fiziologică
Tetraciclină		Antibiotic cu spectru larg
Acid kojic		Antibiotic
Tiosemicarbazone		
(Methisazon, Morboran)		Tuberculostatice, antivirale, antitumorale
Acid p-amino salicilic și derivați (PAS)		Tuberculostatic
Hidrazida acidului izonicotinic (HIN)		Tuberculostatic

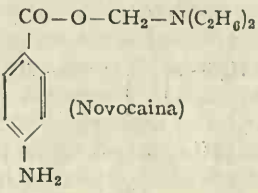
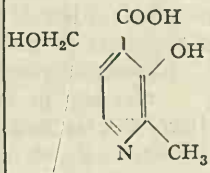
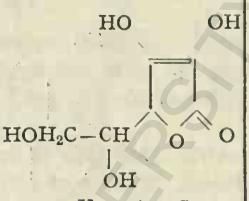
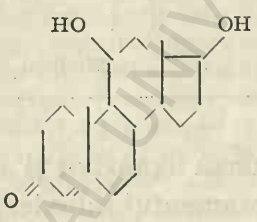
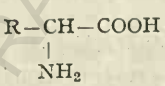
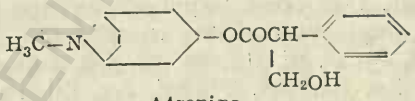
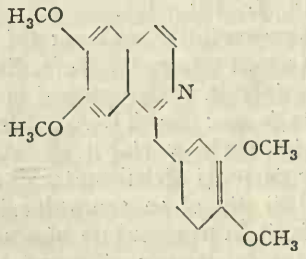
BCUIASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1	2	3
Etambutol		Tuberculostatic
Omadina		Desinfectant
Sulfanilamida		Bactericid
8-Hidroxichinoleina (oxina) și derivați		Bactericid, fungicid
Hidralazina (a) și dihidralazina (b)		Hipotensive
Acidul acetilosalicilic (a), fenacetina (b)		Analgezice

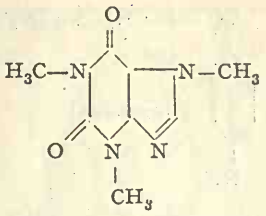
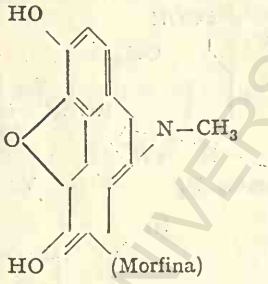
BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1	2	3
Hexaclorofenul		Antibacterian
Acetazolamida		Anticonvulsivant
Antimalarice		
Fenotiazine		Neuroleptice, antihistaminice
Pirazolone		Analgezice, antipiretice
Barbiturice		Hipnotice
Benzodiazepine		Tranchilizante minore

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1	2	3
Derivați ai ac. benzoic	 (Novocaina)	Anestezice locale
Vitamine	 Vitamina B_6  Vitamina C	Biocatalizatori
Hormoni		Biocatalizatori endogeni
Aminoacizi		Rol metabolic
Alcaloizi tropanici	 Atropina	Anticolinergică
Alcaloizi izochinoleinici		Antispastic, musculatrop

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

1	2	3
Alcaloizi purinici		Stimulant al SNC
Alcaloizi fenantrenici	 (Morfina)	Analgezic, opiacee

10.2. Utilizarea liganzilor și a agenților de chelatare în tratamentul intoxicațiilor cu ioni metalici

Procesul de continuă industrializare a statelor și de chimizare a agriculturii este însoțit de o creștere continuă a agenților poluanți în mediu înconjurător. Din acest punct de vedere elementele chimice pot fi considerate, după Wood (350), *necritice* (Na, K, Mg, Ca, H, O, N, C, P, Fe, S, Cl, Br, F, Li, Rb, Sr, Al, Si), *toxice și relativ accesibile* (Be, Co, Ni, Cu, Zn, Sn, As, Tl, Pd, Ag, Cd, Pt, Au, Hg, Te, Pb, Sb, Bi) și *toxice* și *greu accesibile, rare* sau *insolubile* (Ti, Hf, Zr, W, Nb, Ta, Re, Ga, Ln, Os, Rh, Ir, Ru, Ba).

În cadrul poluanților metalici majori: Cd, Pb, Hg ocupă primul loc, în timp ce: Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Mo și Se, elemente esențiale organismelor vii devin toxice numai în anumite doze. Alte elemente cu caracter metalic ca: Be, Tl, Au, Sb, Sn, Ni sau nemetalic As, Te, au un potențial toxic variabil. S, As, Se, Te, Pd, Pt, Au, Hg și Tl formează ușor derivați alchil metalici cu toxicitate superioară metalelor respective. Unii din ei se acumulează în organism, iar alții volatili, intră în atmosferă. În procesul de biosinteză al acestor derivați, metilcobalamina intervine totdeauna și ocupă o poziție cheie.

Prin intermediul microorganismelor, metalele existente în scoarța terestră intră în ciclurile biologice. În celulele organismelor superioare există un echilibru fragil între cantitățile de metale necesare proceselor catalitice și dozele toxice pentru organism. Acest echilibru este dependent nu numai de concentrația metalelor în scoarța terestră, dar și de activitatea microbiană, care în atmosferă transformă metalele în complecși organo-metalici, utilizați de organismele vii. Astfel, microorganismele sintetizează ușor derivați alchil-metalici, stabili în apă, care se acumulează în organismele vii și prezintă o acțiune toxică asupra SNC al organismelor superioare.

Din geocicluri naturale, elementele devin disponibile ciclurilor biologice și pătrund în circuitul alimentar prin intermediul activității metabolice a microorganismelor. În fig. 2.1 se poate urmări mișcarea elementelor toxice în geociclu.

Geociclul indicat este influențat de activități umane care furnizează continuu noi surse de elemente toxice, care devin accesibile biociclurilor.

Datorită interacțiunii lor cu proteinele, ionii metalelor grele exercită o acțiune puternic inhibitoare asupra sistemelor enzimatice. Acțiunea toxică a metalelor și ionilor metalici asupra organismelor vii depinde de raportul dintre absorbție, distribuție, acumulare și excreție. Reacțiile inițiale au loc la nivelul membranei celulare și sînt urmate de pătrunderea toxicului în celule cu modificări ale fiziologiei ei normale.

Unul din domeniile prioritare ale utilizării în scop curativ a liganzilor în medicină se bazează pe proprietatea lor de a forma cu ionii metalici, combinații chelate stabile.

Cu tot numărul mare de liganzi și agenți de chelatare sintetizați, doar un număr redus dintre aceștia s-au impus și sînt folosiți în terapeutică. Liganzii trebuie să posede grupe funcționale cu acțiune chelatantă ridicată, capabili să formeze chelați stabili cu ionii toxici, în condițiile în care ei concurează cu o varietate mare de agenți chelatanți fiziologici, între care proteinele și enzimele, ultimele avînd absolută nevoie de prezența unor ioni metalici (Fe, Cu, Co, Mn, Zn, Mo etc.) pentru activarea lor. Deoarece intoxicațiile cu metale grele cum sînt Hg, Pb, Cd, Tl, As, sînt caracterizate prin blocarea grupărilor SH ale proteinelor, urmată de o vătămare a enzimelor din ciclul citratului, (mai ales a acidului dihidrotioctanic), sarcina agenților de chelatare utilizați ca antidot constă în îndepărtarea cît mai rapidă și mai completă a metalului toxic, fără a prejudicia însă rezerva ionilor biometalici care asigură capacitatea funcțională a numeroase enzime.

Pentru a nu lipsi organismul de bioionii necesari, ca urmare a utilizării în scop terapeutic a liganzilor, o importanță deosebită o prezintă specificitatea lor pentru un anumit ion sau grup de ioni metalici, deoarece acesta trebuie să manifeste o afinitate superioară enzimei față de ionul

toxic, dar inferioară pentru ionul fiziologic activ, pentru a nu lipsi enzima de aceasta. Acest lucru este greu de realizat, ceea ce aplică faptul că în tratamentul intoxicațiilor se folosesc liganzi diferiți, după afinitatea lor față de ionii toxici.

În aprecierea afinităților relative ale ionilor metalici (acceptori de electroni) pentru liganzi (donori de electroni) se utilizează principiul acizilor și bazelor dure și moi (HSAB) (p. 14), conform căruia acizii „duri" preferă bazele „dure", iar acizii „moi" bazele „moi", cu care formează legături puternice. Așa se explică afinitatea mai mare a Be^{2+} față de liganzi care conțin ca atom donor de electroni, oxigenul ca și afinitatea superioară a Hg^{2+}, Pb^{2+}, Cd^{2+}, Ni^{2+}, Pd^{2+}, Pt^{2+}, față de liganzii cu sulf. Din tabelul 20 se observă că liganzii cu atomi donori puternic bazici, preferă metalele cu caracter accentuat acid.

Tabelul 20

Agenți de chelatare și caracterul acido-bazic (HSAB) (3)

Ligand	Atom donor	Ion metalic deplasat	Caracter acido-bazic (HSAB)
Desferioxamina	Mai mulți oxigeni	Fe (III)	Puternic acid
EDTA	4O, 2N	Pb (II), Co (II)	Intermediar
D-Penicilamina	S, N, O	Cu (II), Cu (II)	Intermediar, slab acid
BAL	2S	As (III). Au (I) Hg (I), Hg (II)	Slab acid

Folosirea valorilor constantelor de stabilitate ale complecșilor, determinate in vitro și citate în literatură, în aprecierea comportării ligandului respectiv în organism, deși utilă, nu este suficientă, mai ales din cauza unor concentrații insuficiente uneori a ionului metalic respectiv în lichidele tisulare. Ele oferă totuși cel puțin un prim punct de sprijin în astfel de aprecieri. Așa de exemplu la administrarea EDTA în intoxicații cu Hg^{2+} sau Zn^{2+} este fixat ionul Zn^{2+} sub forma chelatului $Zn\text{-}EDTA^{2-}$, deși constanta de stabilitate a chelatului $Hg\text{-}EDTA^{2-}$ este superioară ($K_{st} = 6{,}3 \cdot 10^{21}$ față de $3{,}16 \cdot 10^{16}$).

Deoarece în organismele vii, se stabilesc mai multe echilibre dinamice între ionii metalici și unele componente fiziologice cu rol de liganzi, în cunoașterea distribuției ionilor sînt utilizate calculatoare electronice. În acest scop informația pentru computer trebuie să cuprindă: concentrația ionilor metalici și a liganzilor, pH-ul mediului, constanta de echilibru (K). Metoda a fost utilizată la cunoașterea distribuției Cu^{2+} și

Zn^{2+} în prezența a 17 aminoacizi din plasma umană, ținînd seama de existența a 159 echilibre posibile (144 b). În fig. 10.1 este evaluată cu ajutorul computerului dependența distribuției Zn (II) și Pb(II) în prezența histidinei și penicilaminei. Se observă că *D* — penicilamina poate concura histidina în ceea ce privește legarea Pb(II), dar nu și a Zn (II).

În mod analog s-a demonstrat că penicilamina oxidată și trietilentetramina pot înlătura, în boala lui Wilson, Cu (II) existent în plasmă, alături de Zn(II) și aminoacizi.

Ținînd seama de efectul de chelare pentru a îndepărta un ion metalic toxic din legătura lui cu proteinele, unde a avut loc lezarea biochimică, este necesar să se utilizeze liganzi polidentați pentru a realiza o reacție efectivă de concurență în scopul deplasării ionului metalic, ca și pentru micșorarea toxicității proprii a chelatului.

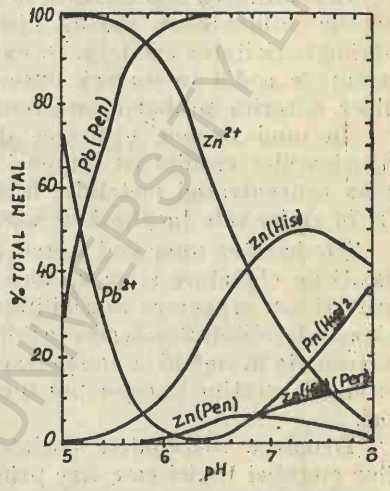


Fig. 10.1. — Dependența distribuției Zn(II) și Pb(II) în prezența histidinei (His) și a D-penicilaminei (Pen) în funcție de pH (după Perrin și Agarwal [253]). Total $Zn=5.10^{+5}$ M, total $Pb=1.10^{+6}$M, total histidină$=1.10^{+4}$M, total D-penicilamină$=1.10^{+5}$ M [253]

Configurația spațială a complexului format constituie un factor important în utilizarea terapeutică a unor liganzi, ca antidoturi în intoxicații cu ioni metalici. Pe această linie configurația lineară este caracteristică ionilor în stare de oxidare +1 (Cu^+, Ag^+, Au^+, Hg_2^{2+}) și Hg^{2+}, configurația tetraedrică ionilor în stare de oxidare +2 ca : Cu^{2+}, Zn^{2+} Hg^{2+}, Cd^{2+}, Be^{2+}. Au^{3+}, cea plan pătratică ionilor Pd^{2+}, Pt^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, cea octaedrică ionilor Co^{2+}, Co^{3+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Cr^{3+}, Pt^{4+}, Pd^{4+}, cît și ionilor metalelor alcalino-pămîntoase în complecși chelați.

Exceptînd specificitatea și configurația spațială a liganzilor și agenților de chelatare utilizați ca antidot în intoxicații cu ioni metalici, ei trebuie să dispună de o balanță hidrofil-lipofilă foarte echilibrată pentru a fi ușor absorbiți și transportați la locul de fixare al cationilor, iar apoi la locul de eliminare, o rezistență cît mai mare față de descompunerea metabolică, să fie solubili în apă și deci în urină, realizînd transportul și eliminarea lor renală și să fie lipsiți de toxicitate. Chelatul format trebuie să fie mult mai puțin toxic decît ionul metalic, să aibă o rezis-

tență mare la descompunerea metabolică pentru a nu elibera cationul toxic la nivelul renal sau alte nivele, aducînd altfel prejudicii funcționării normale a unor organe, lezarea rinichilor, redistribuirea unor ioni toxici din depozite ca de exemplu transportul plumbului din oase în creier (200, 107, 252).

Solubilitatea mai crescută în lipide decît în apă (urină) a chelatului metalic influențează, uneori, distribuția ionilor metalici în organism, mărind toxicitatea acestora. De exemplu administrarea i.p. a dietiltiocarbamat de sodiu la șoareci, duce la creșterea conținutului cuprului în creier, datorită, probabil, caracterului lipofil al complexului.

În mod analog, utilizarea dimercaprolului (BAL) în tratamentul intoxicațiilor cronice cu compuși organici ai mercurului, duce la creșterea concentrației metalului în creier, ficat și mușchi, iar absorbția Tl^+ în creier este facilitată de agenți chelatori.

Toxicitatea unor ioni metalici poate crește uneori în prezența unor agenți de chelatare și ca urmare a transportului chelatului metalic la țesuturi sau organe cu sensibilitate superioară. Așa de exemplu cisteina mărește letalitatea șoarecilor la Cd^{2+} de cinci ori, ca urmare a acumulării lui crescute în rinichi; o comportare analoagă are penicilamina și BAL-ul, iar encefalopatiile la copii pot fi cauzate de tratamente cu agenți chelatori.

Deoarece substanțele chelatoformatoare măresc concentrația ionilor metalici toxici care trec prin rinichi și produc o supraîncărcare a funcțiilor renale, administrarea lor este, de obicei, contraindicată la bolnavii cu leziuni renale.

Administrați în cantități mai mari, agenții de complexare ai zincului pot produce efecte teratogene la animalele gravide. Așa de exemplu D-penicilamina administrată în concentrații de 400 mg/șobolani/zi, acționează ca un puternic teratogen suprimînd efectiv procesele reproductive; în doze de 360—370 mg/zi, efectul este simțitor redus, iar în doze de 200 mg/zi, el este anulat.

Administrarea liganzilor și a agenților de chelatare ca antidoturi în intoxicații cu ioni metalici se face numai sub control medical, pe cale orală, subcutanată, intraperitoneală, intravenoasă, prin inhalații sau chiar extern înglobate de obicei în unguente, în cadrul afecțiunilor cutanate. În toate cazurile se recomandă determinarea concentrației ionilor metalici în urină, ca rezultat al terapiei efectuate.

În tabelul 21 sînt indicați liganzii mai frecvent utilizați în tratamentul intoxicațiilor cu ioni metalici (343), iar în tabelul 22 valorile DL_{50} ale acestora (198).

Sintetizarea unor agenți de chelatare cu activitate și selectivitate superioară va permite, în viitor, un control mai efectiv aspra concentrației ionilor metalici toxici și a celor esențiali organismelor vii.

Tabelul 21

Liganzi frecvent utilizați în intoxicații metalice (343)

Metal	Ligand
Argint	—
Arsen	BAL
Aur	Penicilamină, BAL
Beriliu	Acidul aurintricarbonic
Cadmiu	—
Cobalt	$CaNa_2$-EDTA
Cupru	Penicilamină, trietilentetramină, BAL
Fier	Desferioxoamină
Mangan	$CaNa_2$-EDTA, CDTA, DTPA
Mercur	BAL N-Acetilpenicilamină, alchil-thiol-rezină
Molibden	—
Nichel	Na dietilditiocarbamat
Plutoniu	$CaNa_3$-DTPA
Plumb	(acut) $CaNa_2$-EDTA, (cronic) peniciliamină
Staniu	BAL
Seleniu	—
Taliu	Ditizonă
Telur	BAL
Zinc	$CaNa_2$-EDTA
Lantanide, Actinide	DTPA

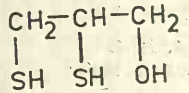
Tabelul 22

DL_{50} a unor agenți de chelatare (189)

Denumire	DL_{50} (mg/kg)	Animal	Bibliografie
BAL	80	iepure	30
Unithiol	~2 000	iepure	31
D-Penicilamină	334	șoarece	32
N-Acetil-D-penicilină	1 000	șobolan	32
Na_2H_2-EDTA	175	om	33
	2 000	șobolan	34
8 Hidroxichinoleina	48	șoarece	35
Na_2Ca-EDTA . $2H_2O$	~6 400	șobolan	36
Na:Ca-DTPA	~6 000	șobolan	37
Etilendiamina	427	șoarece	35
Dithizona	200	șoarece	35
Na-oxalat	100	șoarece	35

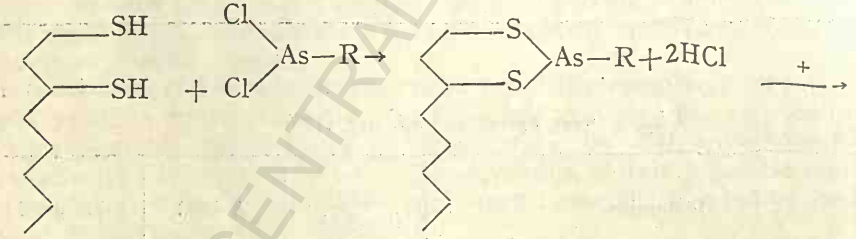
BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2,3-Dimercaptopropanolul (Dimercaprol, BAL = British Anti Lewisite, Sulfactin). Primul agent chelator utilizat în medicina clinică contra intoxicațiilor cu As (exceptînd AsH_3) a Sb, Au, Bi, Hg a Cu^{2+}, în tratamentul bolii lui Wilson, a fost dimercaptopropanolul (10.I). Este un lichid vîscos, cu miros slab de mercaptan, ușor oxidabil în

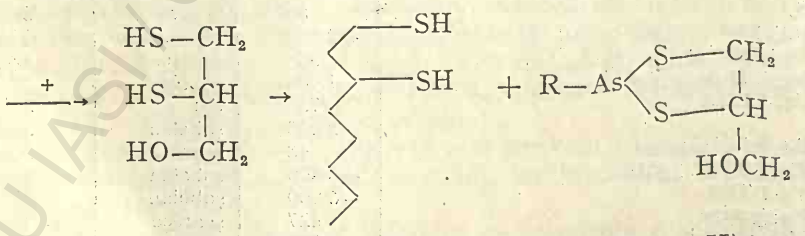

(10.I)

aer, puțin solubil în apă, hidrolizabil, solubil în grăsimi. Are un caracter reducător puternic, transformă metilhemoglobina în hemoglobină redusă, inactivează insulina și citocromii. Este ușor absorbit prin piele, țesutul muscular, repartizîndu-se omogen și rapid în întregul organism cu tendință de concentrare în rinichi și intestin. Se elimină rapid, 80% în 24 ore.

Dimercaprolul conține două grupuri SH în moleculă și concurează cu succes cu grupările —SH ale enzimelor fixînd elementul toxic și protejîndu-le astfel de acțiunea toxică a acestuia sau chiar reactivînd enzimele atacate în cazul în care aplicarea antidotului s-a făcut în timp util. Modul său de acțiune poate fi urmărit schematic în fig. 10.2.



Enzimă activă



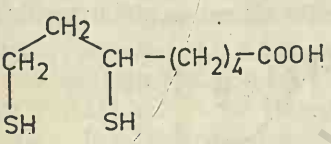
Enzimă activă Complex As(III)-BAL

Fig. 10.2. — Modul de acțiune al dimercaprolului

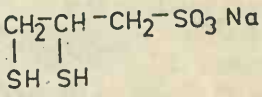
Complexul As(III)—BAL format, este foarte stabil și se elimină prin urină.

Dimercaprolul se administrează în soluție uleioasă 5—10% asociat sau nu cu benzoat de benzil 10—20% i.m., în intoxicații cu metale S-afine amintite mai sus, a Cr, Ni, Po. Poate fi administrat și extern, în unguente, datorită absorbției bune prin piele în tratamentul dermatitelor cauzate de As, Au, a ulcerațiilor din uzinele de prelucrare a cromului, etc. Este contraindicat în leziuni hepatice și hipertensiune deoarece prin complexarea Cu(II) dereglează anumite sisteme enzimatice. În intoxicații cu compuși organici ai Hg(II) duce la creșterea concentrației metalului în creier, ficat, mușchi, iar în cazul intoxicațiilor cu Cd(II) la leziuni renale.

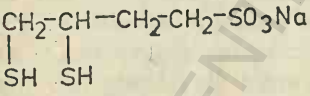
Compuși cu structuri asemănătoare ca acidul 6,8-ditioctanoic (10.II), 1,2 dimercaptopropansulfonatul de sodiu (Unithol) (10.III), 1,2-dimercaptosulfonatul de sodiu (10.IV), dietilditiocarbamatul de sodiu (10.V), cît și alți liganzi cu sulf, ca metil și etilxantatul de potasiu, cisteina, β-mercaptoetilamina și alții, sînt utilizați ca antidot în tratamentul intoxicațiilor cu As și cu metale grele.



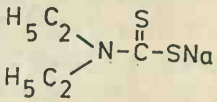
(10-II)



(10-III)



(10-IV)



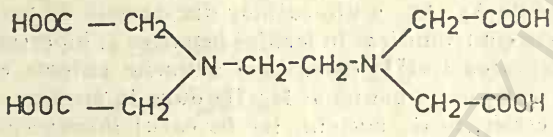
(10-V)

Acidul etilendiaminotetraacetic și derivații.

Acizii aminopolicarboxilicii care formează această clasă importantă de agenți chelatori polidentați prezintă o selectivitate inferioară liganzilor cu sulf sau azot. Ei sînt greu absorbiți pe cale orală din care cauză se administrează de obicei i.v. deși metabolizarea lor se face greu, însă eliminarea lor prin rinichi (urină) este rapidă.

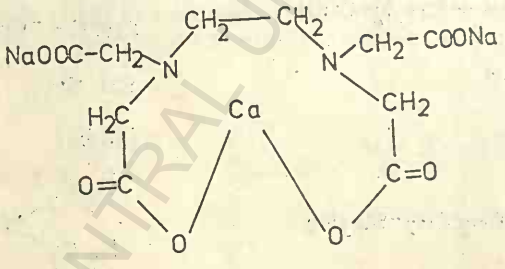
Acidul etilendiaminotetraacetic, EDTA și sarea lui disodică — Na_2H_2EDTA (*10.VI*), reprezentanți principali ai acestei clase sînt liganzi hexadentați, cu puternică acțiune chelatoare față de ionii meta-

lelor alcalino-pămîntoase și ionii bivalenți ai metalelor tranziționale a Th, U, Cu. Se utilizează în intoxicații cu Pb, Cu, Cd, Fe, V, Th, U, Pu, a dermatozelor cauzate de crom și nichel, la fixarea calciului în sclerodermite, în sideroză oculară exo- și endogenă și la supradozarea glicozidelor digitalice (103) cît și ca substanță ajutătoare în farmacii pentru



(10-VI.)

scoaterea din soluții a ionilor metalelor grele, existente sub formă de urme ca impurități în preparate farmaceutice, cauze a numeroase incompatibilități fizico-chimice ale preparatelor respective (102). Utilizarea lor poate produce tetanie, ca urmare a scăderii conținutului de calciu în sînge, din care cauză se utilizează mai ales sub forma sării de calciu și de sodiu, $CaNa_2$—EDTA (10.VI a). Valorile diferite ale constantelor lor de stabi-



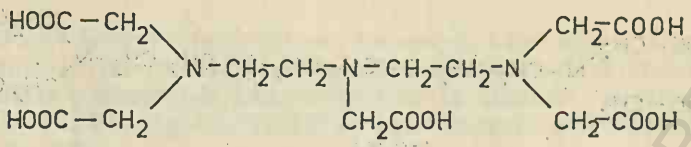
(10-VIa).

litate permit, în anumite condiții micșorarea concentrației sau eliminarea selectivă a unor ioni metalici în concentrații toxice (Zn, Mn, Cu). Astfel complexul Mg—EDTA poate fi utilizat la scăderea tensiunii prin micșorarea Ca^{2+} din sînge ca urmare a înlocuirii lui cu Mg din Mg—EDTA.

Utilizarea combinată a Na_2—EDTA-ului cu BAL poate micșora în mod substanțial mortalitatea pricinuită de encefalopatia acută de plumb, la copii (349).

Terapia cu EDTA este ineficientă în intoxicații cronice cu mangan, dar este utilă în stadii inițiale.

Acidul dietilentriamino-pentaacetic (DTPA) (10.VII) sub forma sării trisodice, Na_3—Ca—DTPA este utilizat în intoxicații cu Pb, Mn,



(10-VII.)

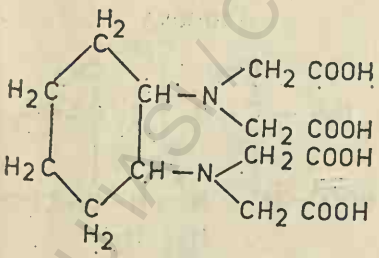
Cd, lantanide, actinide, radionuclizi, precum și în sideremii. Chelatul Ce(III) — DTPA este de aproximativ zece ori mai stabil decît chelatul Ce(III) — EDTA.

Chelații Zn(II), Co(II) și mai ales ai Mn(II) cu DTPA, termodinamic stabili, dar cinetic labili, au dat rezultate bune în schimbul cu izotopi radioactivi ai metalelor grele, fiind utilizați în terapia intoxicațiilor cu radioelemente.

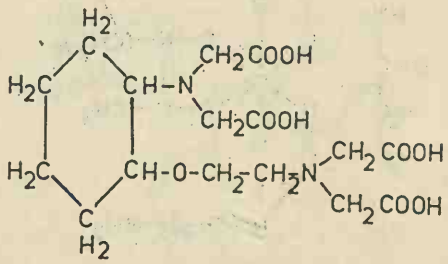
O acțiune analoagă are și *acidul diaminociclohexan-tetraacetic* (DCTA) (10.VIII), *acidul amino-octil oxiciclohexanaminotetraacetic* (*ACATA*) (13) (10.IX), *acidul etilenglicol bis* (β-*aminoetileter*)-*N*, *N*, *N'*, *N'*-*tetraacetic* (*EGTA*) (10.X), precum și *acidul polietileniminoacetic*. *PEIA* (10-XI-a)

Desferioxamină B (10.XI) *sau E* (10.XI a), agent chelator hexadentat, care conține trei grupări bidentate hidroxamice cu afinitate mare față de Fe(III), ($K = 10^{31}$), respectiv 10, 32, 49, intrînd în concurență cu feritina, hemosiderina și mai puțin cu transferina, este fără acțiune asupra hemoglobinei, fosfirinei și citocromilor.

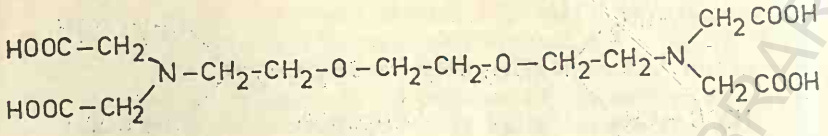
Este utilizată sub formă de metansulfonat, în intoxicații cronice, mai rar acute, cu fier, în eliminarea, în unele cazuri, a unor cantități excesive de fier din organism sau ca test de diagnostic în hematocroza primară. La formarea complexului Fe(III) desferioxamină B (10.XII) participă trei grupări de hidroximat și are o structură octaedrică.



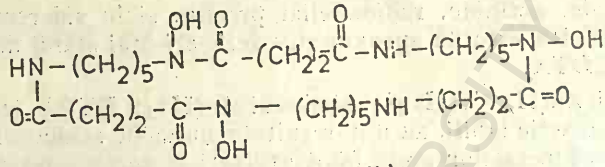
(10-VIII.)



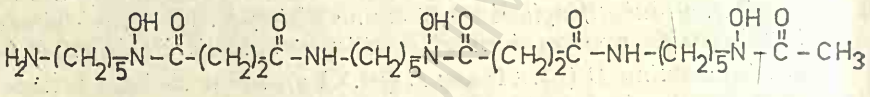
(10-IX.)



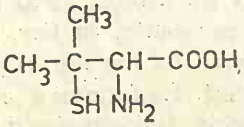
(10-X.)



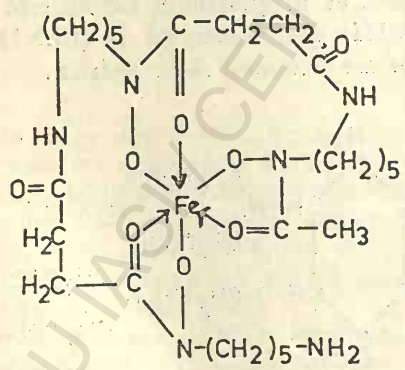
(10-XI a)



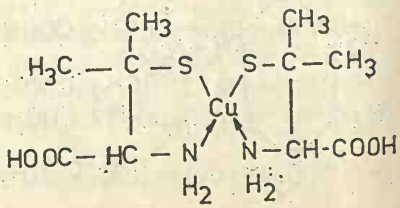
(10-XI.)



(10-XIII.)



(10-XII)



(10-XIV.)

BCU MUSEUL CENTRAL UNIVERSITAR LIBRARY

D-Penicilamina (Metalcaptose, Cuprenyl, Cupriamine, Distamine) sau dimetilcisteina (10.XIII) este un agent chelator asemănător BAL-ului, cu afinitate preferențială față de metalele cu afinitate ridicată față de sulf (Cu, Au, Pb, Hg, Co, Ni, Zn) cu care formează chelați pentaciclici stabili (10.XIV).

Este solubilă în apă, stabilă, poate fi administrată per os, este tolerată în doze mai mari și mai bine decît BAL-ul și ușor eliminată urinar.

Este utilizată mai ales în tratamentul bolii lui Wilson, al poliartritei cronice și în intoxicațiile cu Hg, Zn, Este indicată în administrarea prelungită în intoxicații cronice cu plumb, în urma redistribuirii lente a acestuia din depozite mai puțin accesibile.

Poate produce, rar, unele reacții adverse : hematologice (leucopenie și trombopenie), digestive care cedează la reducerea posologiei, neurologice (cefalee, cataracte, nevrite optice), renale, de la simpla proteinurie la sindrom nefrotic și dermatologice (urticarii).

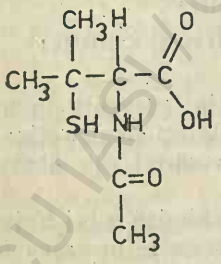
N-acetilpenicilamina (10-XV) cu toxicitate inferioară, este utilizată în intoxicații cu Hg ; poate fi administrată și pe cale orală.

Acidul aurintricarbonic (10.XVI) este un antidot eficace în intoxicații profesionale cu beriliu (beriliooze), datorită formării de chelați stabili, insolubili.

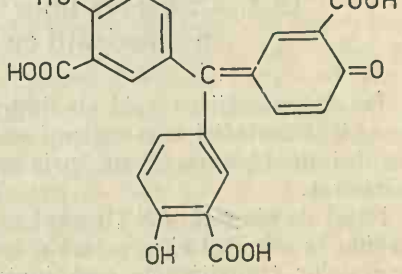
Dietilditiocarbamatul de sodiu (Ditiocarb) (1.V) *și difenilditiocarbazona sau ditizona* (10.XVII), agenți de chelare cu sulf și azot în molecule, au fost utilizați în intoxicații cu Ni(II) și mai ales cu taliu (102, 120). Toxicitatea proprie a ditizonei și afinitatea mare față de mulți ioni metalici, și în special Zn(II), cu constantă de stabilitate ridicată, îi limitează utilizările ca antidot în intoxicații cu metale grele.

Agenți de chelatare polimeri.

În mediul biologic, mercurul este transformat în derivați ai metilmercurului, compuși covalenți, ușor solubili în solvenți organici și în

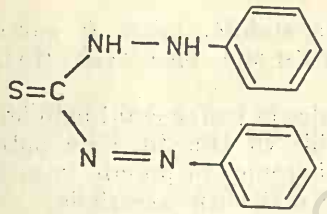


(10-XV)



(10-XVI.)

grăsimi (p. 196); În organism o cantitate însemnată de mercur este excretată (trecută) din ficat în bilă și apoi în intestin împreună cu acizii biliari, unde este reabsorbit și înapoiat ficatului, continuînd astfel ciclul enterohepatic (198).



(10-XVII.)

Administrarea per os a unor agenți de chelatare polimeri, insolubili, capabili de a coordina mercurul din bilă, eliminîndu-l prin fecale, întrerupînd astfel ciclul amintit, ar micșora astfel toxicitatea mercurului. În acest scop au fost propuse mai multe tipuri de chelați polimeri, care conțin grupe mercaptal (151), polimeri fenolici, politioesteri și politiouretani conținînd ca atomi donori oxigenul, sulful sau azotul (238 a).

Metalotioneina

Organismul dispune de agenți chelatori naturali capabili să controleze concentrația metalelor sau ionilor metalici toxici esențiali sau nu lui. Așa de exemplu metalotioneina, izolată la om, iepuri și pisici de Margoshes și Vallée (199) și caracterizată de Kagi (154) și alți cercetători este o metaloproteină cu masă moleculară de aproximativ 10 500 care conține un număr mare de grupări SH, capabile de a fixa pînă la 9 ioni (atomi) metalici. Compușii analogi sînt sintetizați de diferite specii de animale.

10.3. Utilizarea unor chelați metalici în intoxicații cu acid cianhidric și cianuri

În intoxicații cu acid cianhidric și cianuri sînt utilizați, în mod invers, ioni metalici administrați sub formă de chelați pentru fixarea anionului de cianură, toxic, prin substituția ligandului din chelatul administrat.

Ionul de cianură, CN^-, așezat în seria spectrochimică a lui Faians-Tsuchida la sfîrșitul ei, prezintă o tendință ridicată de a forma cu ioni ai metalelor tranziționale combinații complexe, stabile și poate fixa bioionii necesari enzimelor. Fixarea fierului existent în sistemul cito-

cromilor la starea de oxidare +3, sub formă de $[Fe(CN)_6]^{3-}$ stabil, explică toxicitatea sa acută, prin blocarea respirației celulare. Reversibilitatea acestui proces, ca urmare a îndepărtării ionului de cianură, duce la refacerea enzimelor respirației celulare. Ea poate avea loc prin descompunere metabolică sau printr-o reacție de concurență cu alți ioni metalici existenți în exces.

Descompunerea metabolică a ionului de cianură CN^-, are loc prin transformarea sa în ion de tiocianat, SCN^-, ca urmare a unei reacții catalizată enzimatic. Acest proces stă la baza utilizării tiosulfatului de sodiu ca antidot în intoxicații cu cianuri. Capacitatea de dezintoxicare a tiosulfatului de sodiu este foarte mare, efectul producîndu-se însă cu oarecare întîrziere. Din această cauză în intoxicațiile grave cu cianură se recomandă utilizarea ca antidot a unor compuși chelați ai Fe(III), Co(II), cu capacitate de dezintoxicare inferioară, dar cu mare viteză de acționare, care pot concura cu succes cianura legată de enzimă.

Ținînd seama de stabilitatea ridicată a cianocomplecșilor Co(II), în intoxicațiile cu acid cianhidric și cianuri se folosesc ca antidoturi mai ales chelații Co(II) cu EDTA, Co[Co-EDTA] cunoscut și sub denumirea de *Kelocyanor*, $[Co(Histidin)_2]$ cu structuri octaedrice și într-o măsură mai redusă hiroxicobalamina sau vitamina B_{12}. Evitarea urmărilor tardive ale cobaltului neconsumat în procesul de dezintoxicare, adică netransformat în cianocomplex, se face prin administrarea de Na_2—Ca—EDTA.

10.4. Introducerea în organism a unor bioioni deficitari

Chelații metalici pot fi utilizați în scop terapeutic în vederea introducerii unor ioni metalici deficitari organismului, în cazul stărilor patologice cauzate de deficiența acestora (120). În aceste cazuri stabilitatea chelatului trebuie să fie suficient de mică pentru a ceda cationul respectiv receptorilor cărora le este destinat, dar suficient de mare pentru a fi conservat și, condiționat în forme farmaceutice. Așa de exemplu în anemiile prin carență de fier, se administrează, pe cale orală, de obicei săruri de fier (II) cu acizi organici polifuncționali ca: acid lactic, citric, gluconic, glucuronic, glutamic, fumaric, succinic, aspartic, glicocol, serină, cisteină, histidină etc., în care fierul (II) este complexat. În administrarea parenterală, recomandată numai în cazurile unei perturbări propriuzise a resorbției fierului administrat oral, se folosesc mai ales chelați polihidroxilici ai Fe(III): fier dextranul (Myofer, Imferon), Fe(III)-polimaltozat, Fe(III)-zaharat, Fe(III)-sorbitol-citrat (Jectofer) etc. Complexul Fe(III) — Na-bis-(α-γ-dihidroxi-β-β-dimetilbutiratul (Ferronesein) este utilizat i.v.

În mod analog în tratamentul anemiei hipercrome macrocitare se utilizează complecși ai Co(II) cu acid oleic, maltoză, zaharoză, lactoză, cisteină, histidină, metionină, acid aspartic, glutamic, exceptînd vitamina B_{12}.

Preparatele de aur, alături de derivații pirazolonici și hormoni corticosteroizi, ocupă un loc însemnat în terapia artritei reumatismale cronice. Se utilizează astfel combinații complexe ale aurului, ca tetracloroauratul (III) de rubidiu (Aurorubin), aurotioglucoza (Olganol B), auromercaptoacetanilida (Lauron), aurotiomalatul de sodiu (Myocrisyn), etc.

Picard (258) a utilizat în scop preventiv și curativ, cu bune rezultate, oligoelemente sau asocieri ale acestora în diferite afecțiuni, urmărind restabilirea funcțiilor lor fiziologice normale, perturbate sau mult încetinite. În acest mod, procesul normal de autoapărare al organismului este nu numai restabilit dar și amplificat. Astfel a folosit :

— gluconatul de cupru (II), în soluție 0,0225 g%, în boli infecțioase și inflamatorii acute, însoțite de o creștere însemnată a vitezei de sedimentare ;

— gluconatul de mangan (II), în soluție 0,0295 g% în tratamentul artritei alergice ;

— gluconatul de zinc în soluție de 0,0225 g% în tulburări ale funcțiilor gonadotrope ;

— gluconatul cobalt (II) în soluție 0,0225 g% ca simpatico-regiator ;

— asocierea sinergică a acțiunii artritisce a Mn cu cea catalitică a disfuncțiilor neuro-vegetative ale cobaltului, în Oligosol Mn—Co" sau cu acțiunea antiinfecțioasă și inflamatorie a cuprului, în Oligosol Mn—Cu".

— asocierea Zn—Cu ca reglator endocrin în sfera hipofizogenitală a Cu—Ag—Au, metale din subgrupa I, cu rol catalitic, în litiaze anergice, a Zn—Ni—Co ca reglator endocrin hipofizo-pancreatic sau a Ni—Co ca reglator al metabolismului pancreatic neinsulinic.

10.5. Utilizarea liganzilor, a combinațiilor complexe și chelate în scopul privării bacteriilor, virusurilor sau a unor sisteme microbiene de microelemente esențiale activității lor sau furnizării de metale toxice agenților patogeni

Un domeniu prioritar de utilizare al combinațiilor complexe și chelate în medicină îl constituie chimioterapia, prin privarea sistemelor enzimatice microbiene ale bacteriilor sau virusurilor de anumite oligo-

elemente esențiale lor sau prin furnizarea agenților patogeni a unor ioni metalici care le sînt vătămători. Astfel unii chelați metalici cu stabilitate și inerție ridicată, manifestă o acțiune antibacteriană, antifungică, antivirusală și antitumorală însemnată față de microorganisme, fungi și virusuri.

Liganzii utilizați în acest scop trebuie să manifeste o afinitate pentru ionii metalici mai mare decît enzimele bacteriene, dar mai mică decît enzimele organismului gazdă.

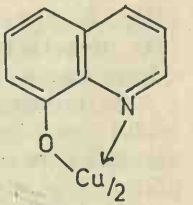
Componenta activă a combinațiilor complexe, este, în astfel de cazuri, greu de precizat; poate fi complexul, ca atare, ionul metalic sau ligandul. În unele cazuri activitatea lor se poate datora și efectelor sinergice a două sau trei componente. În toate cazurile însă, componenta activă provoacă o disfuncție mai mult sau mai puțin permanentă a mecanismului biologic esențial.

Mecanismul lor de acțiune, necunoscut, este influențat de numeroși parametri fizico-chimici, dintre care dimensiunea, distribuția sarcinei, liposolubilitatea, conformația sterică a moleculei și potențialul lor redox, sînt cei mai importanți. Acționînd ca o moleculă integrală, sinergic, sau nu, sub forma componentelor ei, combinațiile complexe și chelate pot prezenta în sisteme biologice, o multitudine de efecte farmacologice, insuficient cunoscute și cercetate (313).

Capacitatea de coordinare și de chelatare a multor substanțe medicamentoase (tabela 18, p. 237), echilibrul lipo-hidrofil și solubilitatea acestora poate constitui, în multe cazuri, o explicație mulțumitoare a acțiunii lor biologice, a legării lor de receptorii specifici și uneori a efectelor lor secundare.

În general ionilor de cupru (II) li se atribuie mai cu seamă proprietăți antimicrobiene, antifungice, ionilor firului, proprietăți bactericide, Zn(II) antivirusale, iar Pt(II) și Pd(II) proprietăți antitumorale.

Proprietățile antimicrobiene și antifungice ale Cu(II), cunoscute de multă vreme, sînt valorificate atît cu ajutorul unor complecși, care eliberează ionul toxic în mediul microorganismelor, cît și prin utilizarea unor liganzi care formează chelați stabili cu Cu(II), privînd astfel bacteriile și virusurile de acest element esențial.



(10.XVIII.)

Astfel, Albert (4) a arătat că acțiunea antibacteriană și antifungică a 8-hidroxichinoleinei (oxina) și a derivaților ei are loc numai în prezența unor ioni metalici ca cei ai Cu(II), Fe(III) cu care formează combinații chelate pentaciclice (10.XVIII) stabile. Astfel soluțiile foarte diluate ~ 10^{-5} M, de oxină, au o puternică acțiune bactericidă contra stafilococilor, în timp ce concentrații mai mari de aproximativ 10^{-3} M sînt inactive în mediu complet lipsite de

ioni metalici. Ele devin active în prezența ionilor Cu(II), Fe(III) cu care formează chelați stabili, chelatarea mărind efectul toxic. Absența Cu(II), Fe(III) sau blocarea grupărilor chelato-formatoare duce la anularea activității. În mod analog grefarea unor grupări lipofobe duce la micșorarea acțiunii antibacteriene, ceea ce denotă liposolubilitatea complecșilor formați.

Chelații ion metalic oxină 1 : 3, fără sarcină electrică traversează peretele celular și sînt puțin activi, în timp ce chelații 1 : 1 și 1 : 2, liposolubili, sînt deosebit de activi.

Ionii metalici a căror efecte toxice nu pot fi crescute prin chelatare, ca de ex. Co^{2+}, pot proteja bacteriile împotriva efectelor toxice ale complecșilor Fe(III)-oxină, în urma unei acțiuni competitive între Co(II) și Cu(II), Fe(III) pentru oxină.

Deși mecanismul prin care complecșii metal-oxină își exercită activitatea este necunoscut, se presupune că oxigenul atmosferic și complexul Fe(III) sau Cu(II)-oxina, oxidează mercaptocompușii în celule cu formare de apă oxigenată, care oxidează în continuarea componentele mai vitale ca acidul lipoic.

Deoarece hematiile inactivează complecșii metalici ai oxinei, utilizarea ei, de ex., în plăci infectate este limitată, cu toate că are un spectru antibacterian similar penicilinei.

Complecșii Cu(II) cu 5-nitro-8-hidroxichinolinele substituite în poziția 7, prezintă o acțiune antifungică asupra unor specii de Aspergillus, Tricoderma, Myrothecium și Trichophyton.

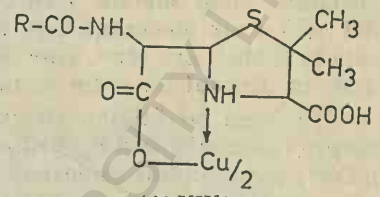
Liganzi cu proprietăți antiinflamatoare, și antireumatice din clasa glucocorticosteroizilor, acidului salicilic și derivați, acidul antranilic, acidul niflumic, acidul d, l aspartic, acidul 2-aminocaproic, l-lisina, d, l, triptofanul, D-penicilamina, fenamolul, fenilbutazona, indometacinul, chelatează ionii Cu(II), în mediu neapos, mărindu-le activitatea farmacologică. Caracterul lipofil al ligandului constituie o condiție favorabilă acțiunii lui; formarea chelaților în fază lipidică le conferă proprietăți antiinflamatoare superioare liganzilor respectivi, iar pentru unii din ei și o activitate antiulceroasă, neîntîlnită la liganzii respectivi (313). Toxicitatea chelaților Cu(II) este inferioară liganzilor respectivi (42). Reacția de chelatare a Cu(II) cu hormonii glucocorticosteroizi este o reacție monomoleculară de tip ionic.

Activitatea antireumatismală a chelaților Cu(II) cu acidul nicotinic, acidul indol-2-carboxilic, l-carboxichinoleina și derivații 8-hidroxichinoleinei, este mărită, în timp ce complecșii Cu(II) cu configurație plan pătratică, sînt inactivi (313).

Chelații Cu(II) cu excepția celui al acidului niflumic inhibă liziloxidaza și catepsina D, enzime care catalizează maturarea colagenului și elastinei din țesuturile inflamate și denaturate.

Activitatea antibacteriană a tetraciclinei a fost corelată cu capacitatea sa de complexare cu Cu(II), în timp ce penicilina pierde proprietățile sale antimicrobiene, datorită formării unui complex care afectează gruparea β-lactamică (10.XIX).

Cu(II) adăugat în culturile unor microorganisme mărește activitatea tuberculostatică a unor substanțe medicamentoase cu proprietăți chelatizante ca : tiosemicarbazonele, HIN, PAS (p. 264).



(10.XIX)

Complecșii Cu(I) și Cu(II) și ai Zn(II) cu derivați de fenantrolină (bathocupreina și bathofenantrolina) și cu 2-acetilpiridin tiosemicarbazona au o acțiune antivirală.

În acest sens, o substanță medicamentoasă cu acțiune antivirală trebuie să fie lipsită de toxicitate sau să prezinte o toxicitate cît mai redusă față de celula gazdă, fiind capabilă să exercite o discriminare subtilă între mecanismele sintezei celulei și cele de repliere a virusului care produce infectarea ei. Ea trebuie să acționeze selectiv și să producă o inhibiție specifică atașării virusului la celule, a diferiților polimerizați virali sau a ARN, mesagerul lor, a enzimelor specifice codificate virusului.

Avînd în vedere proprietățile chelatoformatoare ale porțiunilor proteice și ale acidului nucleic al virusurilor, complecșii cationici ai unor metale tranziționale din grupele VII și VIII, la starea de oxidare + 2 avînd ca liganzi 1,10 fenantrolina sau acetilacetona, înlocuiți în ultimul timp cu liganzi naturali, cu toxicitate inferioară, au fost utilizați ca substanțe antivirale. Ele acționează, probabil, ca inhibitori ai receptorilor colinergici.

Inactivarea virusurilor are loc printr-un fenomen de complexare a lor, în afara celulei, însoțit de ocuparea pozițiilor suprafeței celulei gazdă, împiedecînd astfel absorbția lui, sau prin pătrunderea complexului cationic prin peretele celular, împiedecînd procesele de repliere ale virusului.

Importanța fixării complexului cationic de receptori este demonstrată de toxicitatea, de ex. a [FeII (dipiridil)$_3$] SO_4 și a [Ru(phen)$_3$ I_2], care produc paralizii la șoareci și șobolani, analoage substanțelor curarizante. Activitatea virusurilor care necesită procese de repliere ale ADN (de ex. virusul sarcomului Rous și a variolei la păsări) este redusă de cis $[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$ la 60% după un minut și la 100%, după 30 minute. După Davidson și Rosenberg (371) mecanismul de acțiune al cis $[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$ ar cuprinde atît existența unor interacțiuni cît și a unor reacții directe între complexul metalic și virusurile celulei gazdă. Activitatea antivirusală mult inferioară a complexului cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$,

cu activitate anticancerigenă însemnată este explicată prin labilitatea superioară a celor două molecule de apă, comparativ cu cei doi ioni de clorură, mult mai stabili și mai greu de substituit.

După Oxford și Perrin (242) în interiorul celulei : (a) complexul antivirusal disociază în ionul metalic central și liganzi, care fixează prin chelatare ionul metalic esențial metaloenzimei și oxidează grupările SH ; (b) o metaloenzimă esențială este activată de un alt ion metalic, cum ar fi Mg^{2+} sau Mn^{2+}, care sînt complexați de către ligandul administrat, în drumul lor către metaloenzimă.

Pe baza cercetărilor efectuate cu ajutorul spectrografiei de masă asupra virusului gripal B, purificat, care au indicat prezența Zn^{2+} și uneori a Cu^{2+}, se presupune că enzima ARN- polimeraza este o mtetaloenzimă, care are ca grupare prostetică ionul Zn^{2+}. Micșorarea ionului Zn^{2+} liber din mediul de sinteză al enzimei, ar permite controlul eventual al vitezei de proliferare al virusului. În același timp, administrarea virusului activ a unui ligand chelatofor ar putea duce la formarea unui complex ternar : medicament — Zn-enzimă, inactiv.

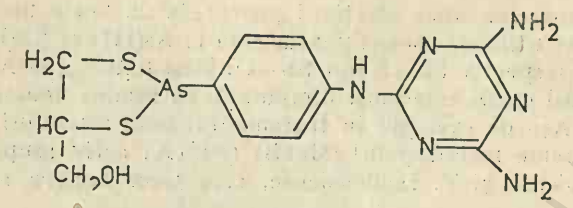
În tabelul 23 se pot urmări unii complecși metalici cu acțiune antivirală.

Tabelul 23

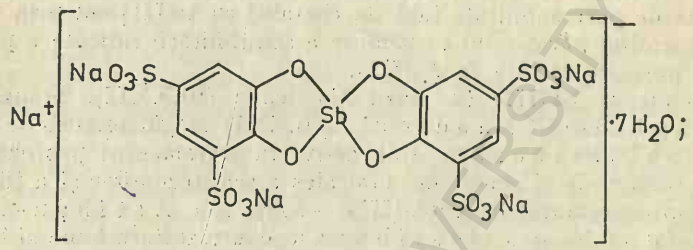
Complecși metalici antivirali (343)

Specii administrate in vitro	Concentrația maximă în μMpt. o inhibiție de 50 %
Bathocuproina (4,7-Difenil-1,9-dimetil-1,10-fenantrolin disulfonat disodic)	50
Bathofenantrolina (2,9-Dimetil-1,10-fenantrolin disulfonat disodic)	80
Ionii Cu (II) și Zn (II)	60—80
Complecșii 1 : 1 și 2: 1 ai Cu(I) și 1 : 1 ai Zn (II) cu bathocuproina și bathofenantrolina	10—20
2 Acetilpiridin tiosemicarbazona	2
Complecșii Cu(I), Zn(II), Ag(I) și Cd(II) cu 2 Acetilpiridin tiosemicarbazona	1
N Metilisatin 3 tiosemicarbazona	5

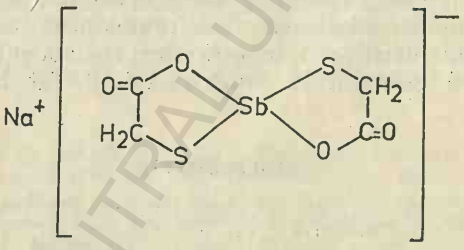
Din tabel se observă că, activitatea *antivirală* a complecșilor este superioară sumei activităților ligandului și a ionului metalic. Date recente sugerează că, după administrarea complexului, ca urmare a disocierii lui, acționează nu numai liganzii, conform mecanismului indicat, dar și ionul metalic eliberat care ar inhiba într-un alt centru enzima polimeraza, de exemplu prin blocarea grupărilor sulfhidril.



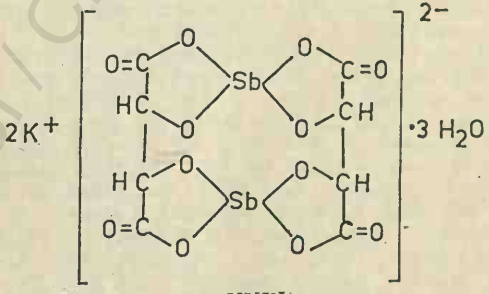
10.XX



(10-XXI)



(10-XXII)



(10.XXIII)

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În combaterea unor afecțiuni provocate de unele protozoare sau helminți, sînt utilizați chelați pentaciclici ai As(III) și Sb(III) cu legături As—S, respectiv Sb—S sau Sb—O. Deși toxicitatea As și Sb față de organismul gazdă este mult diminuată, ea rămîne nemodificată față de parazit. Așa de exemplu în tratamentul bolii somnului se folosește de multă vreme melarsopolul (MelB) (10.XX) activ asupra Trypanosomei gambiense și T. rhodensiense, care trece bariera hemato-encefalică.

Sensibilitatea mărită a paraziților poate fi explicată atît prin diferențele de permeabilitate față de chelatul cu As(III) sau prin perturbarea glicolizei parazitului ca urmare a sensibilității ridicate a piruvatkinazei parazitului față de As(III).

Chelați ai Sb(III) cu acizii tioglicolic (10.XXII), brenzcatehic (Stibophen-ul, Fuadin-ul) (10.XXI) și gluconatul de Sb(V) sodiu (Solustibozan) sînt activi în tratamentul protozoarelor, a unor trematode și nematode, mai ales a schistozomilor și a filariilor; Dimercaptosuccinatul de stibiu(III) — sodiu sau Astiban-ul, alături de fuadin și solustibozan dau rezultate bune și în combaterea bilharziozei, provocată de Schistosoma mansoni, haematobium și japonicum . În cazul S. japonicum tartratul de potasiu și stibiu (10. XXIII) cu structură pseudo-trigonal-bipiramidală este încă utilizat.

Chelații stibiului blochează fosfofructokinaza schistosomelor de 4 ori mai sensibilă decît cea a mamiferelor, enzimă care catalizează trecerea fructoza-6-fosfatului în fructoză-1,6-difosfat în cadrul lanțului glicolizei.

BIBLIOGRAFIE

4, 32, 56, 82, 102, 103, 104, 107, 108, 120, 142, 151, 154, 158, 198, 199, 200, 238 a, 242, 250, 252, 253, 256, 258, 302, 311, 313, 320, 328, 337, 343, 349, 350, 371, 372 378, 379

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIBLIOGRAFIE

A.

1. Abraham P. A., Evans J. L., Trace Subs. Envir. Health-5 Proc. Univ. Mo Ann. Conf. 5th (1971). 2. Adndronikashvili E. L. and col., Canc. Res. 34, 211—4 (1974). 3. Ahrland S., Chatt J., Davies N. R., Quarterly Revs. London, 12, 265 (1958). 4. Albert A., Selective Toxicity ed. V Chapman, London (1973). 5. Allen A. D. și Bottomeley F. Accounts Chem. Res. 1, 360 (1968). 6. Allen A. D., Senoff C. V., Chem. Comm. 621 (1965). 7. Andrews E. D. și col., N. Z. J. Agr. Res., 1 125 (1958); 2; 491 (1966). 8. Anke M., Schneider H. J. and col., Zbl. Pharm., 117, 7, 688 (1978). 9. Anke M., Grun M., Ditrich G., Broppel B. in A. Henning „Trace Element Metabolism in Animals, vol. 2. Univ. Park. Press, Baltimore, Maryland (1974). 10. Anke M. H., Schneider M. and col., Zbl. Pharm. 117, 688—706 (1978). 11. Anke M. H. Tag-Ber Acad. Lanw-wis DDR. Berlin, 132, 197 (1974); Arch. exp. vet. Med. 25, 805—809 (1971). 12. Anke M. in A. Henning, Mineralstoffe Vitamine, Ergotropica, Dt Landw. Verlag, Berlin, 201—210 (1972). 13. Ardeleanu I., Diaconescu M., Igiena. 20, 12 705 (1971). 14. Arsagava N. S., Vopr. Onkol. Moskva, 17, 53 (1972) 15. Atkins H., Th Sciences. 11, 5, 26—29 (1971). 15a. Ansari M. S., Miller W. Y. and col., J. Anim. Sci., 36, 415—419 (1973); 15b. Anke J. and col., Cadmium Symp. Jena Res., 5 (1977).

B.

16. Bachman K. D. and col. Geburtsh u. Franenheilkd Stutgart, 36, p. 308 (1976). 17. Bayley C. H., Ann. J. Vet. Res., 28, 1743 (1967). 17a. Baldauf K., Zbl. Pharm. 117, 7, 747 (1978). 18. Balo J., Bauga I., Acta Int. Contra cancerum. 13, 463 (1965). 19. Bamford F., Poisons: Their Identification and isolation Mc Graw Hill New-York (1951). 20. Barnett, Rosenberg G., Biochimie. 60, 9, 859 (1978). 21. Basolo F., Pearson R. G., Mecanisms of Inorganic Reactions ed. II Willey, N. Y. (1967). 22. Baum V. K., Jansone P. A., Prikl biochim microbiol. 10, 343—349 (1974). 23. Bell M C, Higgs B. C. and col., Fed. Amer. Soc. Exp. Biol., 23, 873 (1964). 24. Bendz G., Linoqvist I., Biochemistry of Silicon and Related Problems Ed. Plenum Press, New York 1978). 25. Berg și Burbank citat după Baldanf K., Zbl. Pharm. 117, 7, 474 (1978). 26. Bliznaker E. G., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 70, 390—94 (1973). 27. Block J., Roche E. and col., Inorg Med and Pharm. Chem., Lea-Febier (1974). 28. Borle A. B., J. Gen. Physiol. 55/163 (1970). 29. Boyer D. P., The Enzymes. Student edition. N.Y. (1970). 30. Bremmer I., Artzt. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals, C F. Mills, S. Livingstone, Edinburg 366—369 (1974). 31. Bremmer I., Hoekstra W. G., Dawies N. T., Williams R. B., Proc. 3rd. Int. Symp on Trace Element Metabolism in Man and Animals, M. Kirchgesner. Tech. Univ. München. 44—51 (1978). 32. Brezeanu M., Spacu M., Chimia combinațiilor complexe, Edit. Did. Pedag., București (1974). 33. Brookes P., Plathner P. A., Chemotherapy of Cancer, Elsevier, Amsterdam 32—43 (1964). 34. Brintzinger H., J. Am. Chem. Soc., 89, 6 871 (1967). 35. Bryden J. M., Bray A. C., Proc. Amst. Soc. Anim. Prod., 9, 335—340 (1972). 36. Buntenkatter S., Dt. Tierärzt Wsch., 81, 341—344 (1974) 37. Burt R. L., Davidson I. W. F.

Diabetol. Latina, 10, 770—772 (1973). 38. Busch R. L., Camphell L. D. and col., Can. J. Anim. Sci., 53, 197, 204 (1973). 39. Busch M. A., Truter M. R., Chem. Comm., 1 439 (1970). 40. Buttner W., J. Dent. Res., 42, 453 (1963).

C.

41. Calvin L. B., Creger C. R. and col., Poult Sci., 51, 576, 581 (1972). 42. Cakir A., Sullivan T. W., Mather F. B., Poult. Sci., 57, 498—505 (1978). 43. Carlisle D. B., Proc. Roy Soc., 31, B 171 (1968). 44. Carlisie E. M., Science 178, 619, 621 (1972); 167, 279 (1970). 45. Carlisle E. M., Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 28, 774 (1969); 29, 565 (1970); 31, 700 (1972), 32, 930 (1973); 33, 1 758 (1974). 45a. Cartwright G. E., in Symp. Cooper Metabolism " (1950); 46. Chat J., Richards R. L., Sanders J. R., Ferguson J. E., Nature, 221, 551 (1969). 47. Chattopahyay S. K. și col., Contraception Los Altos, 14, 331 (1976). 48. Chock P. B., Titus D. E., Progr. Inorg. Nuc. Chem., 18, 287 (1973). 49. Chovin P., Roussel A., Physico chemie et Physiopathologie des poluants athmosphérique, Masson, Paris, (1973). 50. Coleman J. E., Valle B. L., J. Biol. Chem., 236, 135, (1961), 284, 235 (1960). 51. Connors T. A. Roberts J. J., Platinum coordination complexes in cancer chemotherapy, Springer-Verlag, Berlin, N.Y. (1974). 52. Conrad L. M., Hemken Rw., J. Dairy. Sci., 61, 776—780 (1978). 53. Cotton F. A., Wilkinson G., Adwanced Inorganic Chemistry, London Interscience, ed. 3-a (1972). 54. Cotzias G. C. and col., Adv. Neurol., 5, 235 (1974); Nature (London), 201, 1228 (1964). 55. Cotzias G. C. and col., Med. Chim. North Ann., 60, 729 (1976). 56. Cotzias G. C., Foradori A. C., The Biologic Basis of Medicine, Acad. Press, N.Y., p. 105—121 (1969). 57. Crabbe M. J. C., Weight R. B. and col., Biochem. J. 155, 679 (1976). 58. Crumblis A. L. și Basolo, J. Am. Chem. Soc., 92, 55 (1970). 59. Cunningham I. in Symp. of Cooper Metabolism, Ed. Mc. Elroy. J. Hopkins. Press, Maryland (1950). 59a. Cohn M., Leigh S. Y., Nature, 193, 1 037 (1962); Biochemistry, 2, 623 (1963).

D.

60. Danks D. M., Campbell P. E. and coll., Lancet, 1, 100 (1972). 61. Day R. D., Seeman N. C., Rosenberg J. M., Rich H., Proc. Nat Acad. Sci., (Wash) 70, 849 (1973). 62. De Corte-Balten, Med. Fac. Diergen lesk., 16, 1—88 (1972). 63. Decowski M., Bull. Vet. Inst. Pullawy., 18, 44—49 (1974). 64. Delwiche C. C., The Nitrogen Cyde Sey Amer., 223, 136 (1970). 65. Dick A. T. in „Inorganic Nitrogen Metabolism" p. 145. Jolnis, Hopkins. Press., Baltimore, Maryland (1956). 66. Diehler H., Eigen M., Ilgenfritz G., Maas G., Winkler R., Pure Appl. Chem., 20, 93 (1969). 67. Dieulouard G., La prophylaxie de la carie dentaire par les dentrifices fluores, These, Univ. Nantes, 1972—73. 68. Dierheimer G., Bull. Soc. Pharm. Strasbourg, vol. 28, 2, 81, (1975) 69. Djahanschiri H., Brune H., Z Tierphysiol. Tierernähr., Futtermittelk, 35, 40—50 și 201—213, (1975). 70. Dowe W. F. și Davidson N. J. Mol. Biol., 5, 468, (1062). 71. Dowling J. T., Frenkel N., Ingbar S. H., J. Clin. Endocrinol., 16, 280, (1956). 72. Dumitru J., Iordăchescu Dana, Enzime, Ed. Medicală, Buc., (1974). 73. During R., Zbl. Pharm., 117, 734, (1978). 74. During R., Spurenelemente in Gynecologie und Geburstshete. Zbl. Pharm., 117, 7, 732—736, (1978). 73b. Duax W. L. and col., Science, 176, 911 (1972).

E.

75. Eggere, Metsuer D. and col., Zbl. Pharm. 117, 7, 680, (1978). 76. Eichhorn G. L., Inorganic Biochemistry, Elsevier Publ., Amsterdam, London, N. J., vol. 1, 2 (1973). 77. Eichhorn G. L., Shin J. A., J. Am. Chem. Soc., 90, 7 323 (1968); Biochemistry 7, 1 026 (1968). 78. Eikchorn G. L., Clark, P. Becker, Biochemistry, 5, 245 (1966). 79. Eichhorn G. L. și Clark P., Proc. Natn. Acad. Sci. U.S., 53, 586 (1965). 80. Eichhorn G. L., P. Clark și Tarrien E., J. Biol. Chem. 244, 4 409 (1969). 81. Enescu

L., Vitamine liposolubile. Xeros, IMF Iași (1975). 82. Enescu L., Biochimie medicală, vol. 2, IMF Iași (1978). 83. Engel R. W., Price N. O., Miller R. F., J. Nutr., 92, 197 (1967). 84. Everson G. J., Proc. 1-rd Int. Symp. on Trace Element. Metabolism in Animals, C.F. Mills, Livingstione, Edinburgh, 125—129 (1970). 84b. Eustachio A. J., Hardy R. W. F., Biochem. Biophys. Res. Commun. 15, 319 (1964).

F

85. Fassbender C. P., Rang H., Zbl. Vet. Med. A 22, 533—548 (1975). 86. Fejfor Z., Chimique OMS, 25, 8, 378 (1971). 87. Felsenfeld G. și Rich A., Biochim. Biophys Acta, 26, 457 (1957). 88. Flagstad T., Nord. Vet. Med., 28, 160—169 (1976). 89. Fore H., Morton R. A., Biochem J., 51, 598, 600, 603 (1952). 90. Fredga A., Organic selenium compounds, Their Chemistry and Biology,. ed. Klaymon D. L., W.H.H. Gunter, VII—X, New York, Wiley (1973). 91. Friberg L., Piscator M., Nordberg G., Cadmium in the environnement, Cleveland, Ohio, CRC Press (1971). 92. Frieden K., Scientific Amer. New York, 227, 7, 52—60 (1972). Friedman M. (ed.) Protein-Metal-Interactions, Plenum, New York (1974). 93. Fuchs E., Millette R. L., Zilig W. și Walter G., Eur. J. Biochem. 3, 183 (1967). 94. Fuller S. A., Vet. Med. Small Anim. Clin. 66, 202—7 (1971). 95. Furst A. Chemistry of chelation in Cancer, Ed. Thomas Springfield ed. 3 (1963). 96. Furst A., Geol. Soc. Amer. memoir, nr. 123, 109 (1971). 96a. Fletcher J., Huehns E. R., Nature, 218, 9211 (1968).

G

97. Ganther H. E., Wegner P. A., Sunde M. L., Hoekstra W. G., Trace substances in Environmental Health, ed. D. D. Hemphill, 247—52. Columbia Univ. Missouri Press. (1972). 98. Gel'fman M. F., Kustova N. A., J. Norg. Chem., 15, 1602 (1970). 99. Ghergariu S. Cuproze la animale de fermă. Teză de doctorat, Inst. Agr., Cluj-Napoca 1972. 100. Gibbons R. A., Diron S. N., Halliskrand I and col., Biochim., biophys. Acta, 444, 1—10 (1976). 101. Giessen G. J., Petering H. G., J. Med. Chem., 11, 675 (1968). 102. Goldstein A., Arokow L., Kolman S. M., Principles of Drug Action, Haryer and Rom. Publ., New York (1966). 103. Goodman L. S., Gilman A., The Pharmacological basis of Therapeutics, ed. 5. Mc. Millan, N. Y. (1976). 104. Gould F. R., Bioinorganic Chemistry, Advances in Chemistry Series 100, Amer. chemical Society, Washington (1971). 105. Gozariu L., Dascălu R., Calciul în organismul uman. Ed. Dacia (1973). 106. Goyer R. H., Mohaffey K. R., Environment health perspective 1,s. 73 (1972).a 106. Green J. and col., Nature (London), 190, 318, 1961. (106b) Green y., and col. Nature (London) 190, 318 (1961) 107. Grecu I., Curea E., Interacțiuni între substanțele macromoleculare și medicamentoase Ed. Dacia, Cluj-Napoca (1976). 108. Grecu I., Noțiuni fundamentale de chimie. Xeros, IMF, Cluj-Napoca (1972). 109. Grecu I., Chimia nemetalelor, chimia metalelor. Xeros IMF, Cluj-Napoca, (1973). 110. Gregoire P. R., Biochimie patologique, Acad. Press., Libr. Maloine S.A. Paris (1971). 111. Grifith J. S., Proc. R. Soc. A., 23, 235 (1956). 112. Groot A. P., Food. Cosmet. Toxicol., 11, 955 (1973). 113. Gross J., Pitt-Rivers R., Lancet, 1, 439 (1952). 114. Gruhn K., Lüdke H., Arch. Triererähr., 22, 113—124 (1972). 115. Gründer H. D., Fluor-missionswirkungen auf Rinder; Habilitationsschift Tierärztl Hochschule, Hannover (1972). 116. Grün M., Kronemann H., Zbl. Parm., 117, 7, 711 (1798). 117. Guthrie B. E. Mc. Kenzie J. M., Casey C. E., Prof. 3-rd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Man and Animals, M. Kirchgessner, Techn. Univ. München. 304—306 (1978). 117a. Goldwater L. J., J. Roy. Publ. Health., 27, 279 (1964).

H

118. Hadow A., Acta int. cancer. 3, 342 (1938). 119. Hallberg L., Harwerth G., Vannotti A (eds.), Iron Deficiency Pathogenesis, clinical Aspects, Therapy, Acad. Press, New York, (1970). 120. Haller R., Hansel W., Pharm. Ztg., 118, 796 (1973). 121. Hagenfeld K. și col., Acta endocrinol., Kobenharn 72, 115 (1973). 122. Ham-

BIDGE K. M., Proc. 2rd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals, Univ. Parc Press, Baltimore, London, 171—182 (1974). 123. HAMBIDGE K. M., DROEGEMNELER W., Obstet. gynecol., Philadelphia, 44, 666 (1974). 123aHAMILTON E. I. and col., Sci. Total Environ., 1, 341, (1972/73); 1, 375 (1972/73); 124. HANKIEWICS J., SEVECEK. E., Zbl. Gynäcol., Leipzig, 96, 303 (1974). 125. HARDY R. W. F., BURNS R. C. și PARSHALL G. W., Adv. chem., 100, 219 (1971). 126. HARRISON D. E. și TAUBE H., J. Amer. Chem. Soc. 89, 5 706 (1967). 126a. HART L. J., OWEN E. C., Brit. J. Nutr. 21, 617 (1967). 127. HAY W. R., Metal. in catalysis and metalloenzymes (citat după nr. 343, p. 51—90 (1976). 128. HELBOK H., SALTMAN P., Biochem. Biophys Acta, 135, 979-(1967). 128a. HASSAL C. H., THOMAS W. A., Chemistry in Britain 146 (1971). 129. HEMPHIEL D. D., Cadmium Symp., Jena, Res. 31 (1977). 130. HENNIG A., Mineralstoffe, Vitamine, Ergotropika, Veb, Berlin (1972). 131. HENRICI-OLIVE G., OLIVE S., Angew. Chem., 81 679, (1969). 132. HOEKSTRA W. G., SUTTIE J. W., GANTHER H. E., MERTZ W., Proc. 2rd. Int. Symp. on trace Element Metabolism in Animals Univ. Park. Press, Baltimore London (1974). 133. HOEKSTRA W. G. et col. eds., Trace Element Metabolism in Animals, Univ. Park. Press, Baltimore, Maryland (1974). 134. HOFFMAN D., NLYOGI S. K., Science, vol. 198, nr. 4 316, 513 (1977). 135. HOLLMAN P. S., PERRIN amD. D., WATT A. E., Biochem. J., 121, 549 (1971). 136. HOPPS H., CANNON H., Ann. N. Y. Acad. Sci, 199 (1972). 137. HOPKINS L. L., MOHR H. H., Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 33, .1 773 (1974). 138. HOPKINS L. L. and col., Biochim. Biophys. Acta. 90, 484 (1964), Amer. J. Physiol., 209, 731 (1965); 211, 169 (1966). 139. HOPKINS L. L., MOHR H. H. în „Never Trace Elements in Nutrition Ed. M. Dekker, N. Y. (1973). 140. HORACEK P., DROBNIK J., Biochim. Biophys. Acta (Austr.), 254, 341 (1971). 141. HUCK W. D., CLAWSON A. J., J. Anim. Sci., 43, 1 231, 1 246 (1976). 142. HUGHES N. M., The inorganic chemistry of Biological Processes, John Wiley, Sons London, New-York, Sydney-Toronto (1975). 143. HUGHES R. G., BEER J. L., KIMBALL A. P.' Proc. Amer. Assoc. Cancer Res 13, 120 (1972). 144. HURLEY L. S., EVERSON G. J., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 102, 360 (1959), J. Nutr., 66, 309 (1958), 67, 445 (1959). 144a. HARDER A. C., ROSENBERG B., J. Canc., 6, 207 (1970). 144b. HALLMAN P. S., PERRIN D., WATT A. E., Biochem. J. 121, 549, (1971); 144c. HEOGE B. and col., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 107, 734 (1961),

I

145. INGRAM V., in The biosynthesis of macromolecules. E. Benyamin N. Y., p. 65 (1966). 146. IVANOV V. T., OVCHINNIKOV Ju. in Conformational Analysis, scope and Present. Limitation Acad. Press, London, 111 (1971). 147. IWARSSON K., EKMAN L., Acta Vet. Scand., 14, 338, 34 (1974). 148. IZATT E. M., CHRISTENSEN J. J., RYTTING J. H., Chem. Rev., 71, 439 (1971).

J

149. JANES J. M. Mc GALL J. T., ELVEBACK L. M., Trace Metals in Human Osteologic Sarcom, citat după Valeovie V. Trace Elements and Life. Period. biol. 77, 5—17 (1975). 150. JOHNSON R. H., LITTLE J. W., BICKIEY H. C., J. dent. Res., 48, 1 290, 1 295 (1969). 151. JONES M. M., J. Iorg. nucl. chem., 40, 1 235—1 239 (1978). 152. JOSHINARI KIDAMI, Yoichi Asano Masahide Noji, Chem. Pharm. Bull., 27 (11), 2 577—2 582 (1979). 153. JUDITH M. K., WHELAN H., PETERING H. D., J. Inorg. Biochem. 11, 327,—338 (1979).

K

154. KAGI J. H. R., VALLEE B. L., J. Biol. Chem., 235, 3 460 (1960), 236, 243 (1961). 155. KANEKO J. J., CORNELIUS C. E., Clinical biochemistry of domestic animals. Acad. Press, New York, ed. II (1971). 156. KANEKO J. J., Iron Metabolism in clinical

Biochemistry of Domestic Anim. Acad. Press, N. Y., London, ed. 2, 1970. 157. Kasparek K., citat după Krausse K., Zbl. Pharm. 117, 7, 724 (1978). 158. Katkleen Bizot Swedo, John H. Enemarc, J. Chem. Educ., 56, 2 (1979). 159. Katz F., Biochim. Biophys Acta, 68, 240 (1963). 160. Kawashima R., Ishida N., Proc. 2rd. Int. Simp. of Trace Element Metabolism in Animals, Univ. Park Press, Baltimore, London, 621—623 (1974). 161. Kehoe R. A., J. Roy, Int. Publ. Health, 24, 81, 101, 129, 177 (1961). 162. Kicina K. K., Ghidranovici V. T., Zb. Rabot. Vet. Int. Leningrad, 38, 83—87 (1974). 163. Kilbourn B. T., Dunitz J. D., Pioda L. A. R., Simon W., J. Mol. Biol., 30, 559 (1967). 164. Kirch-Gessner M., Proc. 3rd. Int. Symp. on Trace. Element Metabolism in Man and Animals. Techn. Univ., München (1978). 165. Kisso, Szoke B., Zbl. Gynälkol. Leipzig, 97, 924 (1975). 166. Koch H. F., Smith E. R. and col. Cancer, 9, 499 (1956). 167. Kolb E., Gürtler H. Ernährungsphysiologie der landwirtschaftlichen Nutztierle. VEB, G. Fischer, Jena (1971). 168. Kopp Ch., Tierärzt. Umschan, 29, 273—280, 565—569; 381—388 (1974). 169. Kasta L., Byrne A. R., Zelencov, Nature (London) 254, 238 (1975). 170. Kotowycz G., Hayamizu K., Biochem. 12, 517 (1973). 171. Kowalsky V. V., Proc. 1-rst. Int Symp. on Trace Element Metabolism in animals, GF Mills-Livingstone, Edinburg, 385—396 (1970). 172. Krause G., Spurenelemente in der Neprologie, Zbl. Pharm. 117, 7,724 (1978). 173. Kuyawa M., Engst R., Zbl. Pharm., 117, 7, 707 (1978). 174. Kühl U. G., Toxickologische und biochemische. Untersuchungen zur Feststellung. Subklinischer cadmium Wirkungen bei schofen Inang. Diss. Tierärztl-Hochschule Hannover (1976).

L

175. La Bella F. S., Dular R. V., Quen G., Biochem. Biophys. Res. Commun., 52/786 (1973). 176. Lassiter J. W., Abrams E., Miller J. și col. Proc. 3rd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals, Univ. Park Press. Baltimore, London, 577—554 (1978). 177. Lassiter J. W., Marton J. D., Miller W. J., Proc. I-rst. Int. Symp. Trace Element Metabolism. Anim. 430 (1968). 178. Lassiter J. W., Miller W. J., Pote F. M., Gentry R. P., Proc. Soc. exp. Biol. 139, 345—348 (1972). 179. Langel P., Bull. Soc. Pharm. (Strasbourg), 18, 2, 89 (1975). 180. Lazăr C. T., Biochimie odontologică Lito IMF, Cluj-Napoca (1977). 181. Lee D. H. „Metallic contaminants and Human Health" Acad. Press. New-York (1972). 182. Levander O. A., Ann N. Y., Sci. Acad., 192, 181 (1972). 183. Levander O. A., Young M. L., Meeks S. A., Toxicol Appl. Pharmacol. 16, 79 (1970). 184. Levier R. R., Bioinorg. Chem., 4, 109 (1975). 185. Lindskag S., Nyman P. O., Biochem. Biophys. Acta, 85, 462 (1964). 186. Linss G., Spurenelemente in Dermatologie Zbl. Pharm. 117, 7, 750 (1978). 187. Lipscomb W. N., Reeke G. N., Hartsuck J. A., Phill. Trans. Roy Soc., 13, 257, 177 (1970). 188. Livingston D. M., Wacker W. E. C., Triangle, 10, 4, 169 (1971). 188b. Lob M., Med. et Hyg. 36, 557 (1978). 189. Lu F. C., Chronique OMS, 28, 8—11 (1974). 190. Luckey, citat după Kujawa M., Engst R., Zbl. Pharm. 117, 7, 710 (1978). 191. Luecke R. W., Ruksan E. B., Baltzer V. B., Proc. Arst. Int. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, C. F. Mills, S. Livingstone, Edinburg, 471—473 (1970).

M

192. Mabford F., Poisons Their Identification and Isolation, Mc Graw Hill, New-York (1951). 193. Magos L., Br. Med. Bull., 31, 241—245 (1975). 194. Maltus R. S., Ludwig R. G., NZ. Dent. J. 60, 291 (1964). 194a. Malstrom B. G. din „Iron Deficiency', London, Acad. Press, E 20 (1970). 195. Mahaffay K. R., Slone C. L., Bank T. A., Proc. 3-rd Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Man and Animals, M. Kischgesdner, Tech. Univ. München, 1 584—587 (1978). 196. Man E. B., Heineman M. and col., J. Clin. Invest., 30, 157 (1951). 197. Mănescu S., Diaconescu M. L., Igiena, vol. 25, 3, 183 (1976). 197a. Mansy S., Rosenberg R., and col., J. Amer. Chem. Soc.

95, 1 633 (1973). 198. Mark M. J., Thomas Lt., Pratt I., J. Chem. Educ., 53, 6, 342 (1976). 199. Margoshes M., Vallee B. L., J. Amer. Chem. Soc., 79, 4 813 (1957). 200. Martell A. K., Calvin M., Die Chimie der Metallchelstverbindungen Verlag, Chemie, Weinheim (1958). 201. Masironi R., Wosf W., Mertz W., Bull. OMS (1973). 202. Masironi R. and col. Sci. total envir., 7, 27, 43 (1977). 203. Masironi R., Relations entre oligo-elements et maladies cardiovasculaires OMS, Geneve (1974). 204. Masironi R., Geochemical environements in relation to health and diseases OMS, Monografie Geneve (1973). 205. Matrone G., Hartman R. V., Clawison B. J., J. Nutr., 67, 309 (1959). 206. May J. O., Kubena L. F., Deaton J. W., Reace F. N., Ponat — Sci., 52, 688—692. 207. Mayer E., Nobel T. and col., Rapp. Resum. 9e Congr. Int. Malad. Bétail. 2, 1 253—1 157 (1976). 208. Mayer J. L., Bauman J. E. J. Am. Chem. Soc., 92, 4 210 (1970). 209. Mc Langhlin S. G. A., Szabo G. and col. Proc. Nat. Acad. Sci. US, 67, 1 268 (1978). 210. Mc Crady J. B., Hightower D., Williams G. D. and col., Cardiovasc. Res. Cent. Bull., 12, 21—26 (1973). 211. Mc Pherson A., Moon F. E., Voss R. C., Brit. Vet. J., 129. 414—426 (1973). 212. Mertz W., Cornatzer E., Newer trace. elements in nutrition, N. Y. Deker. Ed. (1971). 213. Mertz W.. Proc. 2 rd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals, Univ. Park. Press, Baltimore, London (1974) 214. Mertz W., Roginski E. E., Reba R., Amer. J. Phyiiol.209, 489 (1965). 215. Mertz, W., Ped. Prod., Ped. Amer. J. Soc. Exp. Biol., 26, 186 (1967). 216. Messer H. H., Armstrong W. D., Singer L., Proc. 2-rd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals Univ. Park. Press. Baltimore, London, 425—435 (1974). 217. Metzner H. Photosyntetic oxygen Evolution, Acad. Press., New York (1978). 218. Milcu St., Endocrinologie clinică, Ed. Med. Buc. (1967). 219. Mildvan A. S., Metals in Enzyme Catalys, 446—536. Edited by Boyer P Accad. Press., New-York (1970); 220. Mildvan A. S., Cohn M., aAdv. Enzymol. (1970). JBC. 240, 238 (1965); 241); 1 178 (1966). 221. Mildvan A. S., Leigh J. S., Lohn M., Biochemistry J., 1 805(1967). 222. Miller J. K., Iswanson E. W., Spalding E. G., J. Dairy Sci., 58, 1 578—1 593 (1975). 223. Miller J. K. and coll., J. Nutr., 95, 278 (1968); 92, 71 (1951). 224. Mills C. F. (ed.), Trace Elemen Metabolism in animals vol. 2, Livingstone, Edinburg (1970). 225. Mitchell P. C. H. Seeman A., Editors. Proc. of the Second Int. Conference of the Chemistry and uses Molybden, climax Molybdenum Company, London (1976). 226. Miu M., Magneziul in patologia copilului, Teză de doctorat. IMF Cluj-Napoca (1973). 226a. Morf W. E Simon F., Helv. Chim. Acta., 54, 2 683 (1971). 227. Mullor J. B., Vigil J., Bieba L. D. and col., Rev. Fac. Anim. Univ. Nacion Lit. 30, 73—94 (1972). 228. Muth O. H. ed. „Selenium in Biomedicine Avi Publ., Westport Connecticut (1957). 229. Muth O. H., Oldfield J. E., Weswing P. H., Selenium in biomedicine Westport, Conn, The Avi Publishing Company (1967).

N

230. Neathery M. W., Miller W. J., Feedstuffs, 48, 36—41 (1976). 231. Neathery M. W., Miller W. J., J. Dairy Sci., 58, 1 767—1 769 (1975); 53, 197 — 204 (1973). 232. Nielsen F. H., Givand D. R., Zimmerman T. J., Olerich D. A., J. Nutr. 105, 1 620 și 1 607—1 619 (1975). 233. Nielsen F. H., Olerich D. A., Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 32, 329, (1973); 33, 1 757 (1974). 234. Nielsen F. H., in „Newer Trace Elements in Nutrition", M. Dekker, New York (1971). 235. Nielsen F. H., Olerich D. A., Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 329 (1973). 235. Nielsen F. H., Higgs D. J., Trace substances in environamental health, IV (1971). 237. Nicholas D. J. B., Egan A. R., Trace Elements in Soil—Plant—Animal Systems, Acad. Press N—Y 238. Novello și Stirpe F., Biochem. J., 111, 297 (1959). 238a. Nyssen A. G. and col., J. Inorg. nucl. Chem. 40, 1 889—1 892 (1977).

O

239. Oehme F. W., Heavy Metalsin the Environment, M. Dekker, New York (1975). 240. Onkelinx C., Becker J., Sunderman F. W. Jr. in „Trace Element Metabolism in Animals vol. II, Univ. Park. Press, Baltimore, Maryland (1974). 241. Onkelinx C, Srivastava R, Lefevre N., Proc. 3rd. Int. Symp. on Trace Element metabolism in Man and Animals, M. Kirchgessner Tech. Univ., München 268 (1978). 242, Oxford J. S., Perrin D. D., Gen. Virol, 18, 11 (1973), 25, 59 1974).

P

243. Pape L., Multani J. S., Stitt C., Saltman P., Biochem., 7, 606 (1968). 244. Parizek J., Ostadalova J and col., The detoxifyng effects of selenium, in Never trace elements in nutrition, Mertz W., Cornatzer W. E., ed. M. Dekker, N. Y. (1972). 245. Parizek J. Toxicological studies involving trace elements, Rapp techn AIEA, p. 177, Vienne (1972); J. Endocrinol, 15, 56 (1957); J. Reprod. Fert., 1, 234 (1960); Nature, 177, 1036 (1956). 246 Partschefeld M., Erscheinungsbild, Diagnosemöglichkeiten und Verbreitung des Selenmangels beim wachsenden und laktierenden wiederkäuer in der Südberiken der DDR, Diss. Karl-Marx Univ., Leipzig, (1974). 247. Pauling L., The Nature of the Chemical Band., 3rd, Cornell Univ. Press., N. Y. (1960). 247a. Patterson C. C., Arch. Envir. Health., 11, 344 (1965). 248. Pauling L., Nature, 203, 182 (1964). 249. Pankesen-Podeanu A., Bolocan Th., Radu M., Med. Int., 25, 2, 187 (1973). 250. Pearson R. C., Hard and Soft Acids and Bases Stroudsburg Penn Dowden Hutchinson and Ross (1973). 251. Pedersen C. J., Truter M. R., Endeavour, 30, 142 (1971). 251a. Pedersen C. J., J. Amer. Chem. Soc., 89, 2 495, 7 017 (1967). 252. Perrin V. D., Biological applications in „Masking and Dunsking of Chemical Reactions, New-York, Wiley-Intersc. (1970). 253. Perrin Dc. D., Agarwal R. P., Metal Induced Toxicity and Chelation therapie, citat din Williams (343), cap. 19 (1976). 254. Perry H. M., Tipton I. H., Schroeder H. A., Cook M. J., J. Lab. Clin. Med., 60, 245 (1962). 255. Perry H. M., Tipton I. H., Schroeder H. A., Steiner R. L., Cook M. J., J. Chron. Dis., 14, 259 (1961). 256. Peters H. A., in Metal-Binding in Medicine, Seven M. J., Johnson L. A., edit. Philadelphia (1960). 257. Peters T., Blumenstock F. A., JBC, 242, 1 574 (1967). 257a. Petering H. B. and col., Canc. Res., 24, 367 (1964). 258. Picard H., Utilisation thérapeutique des oligo-elements, ed. II, Libr. Maloins S. A., Paris (1971). 259. Poll E., Contribuții la rolul seleniului în patologia puilor de găină. Teză de doctorat, Inst. agron. București (1968). 260. Pollycove M., Mortimer R., Hemachromatosis, Ed. Mc. Graw Hill, 1 127—1 164 (1978). 261. Prasad A. S., Oberleas D., Trace Elements in Human Health and Disease, vol. I, N. Y., London, San Francisco, Acad. Press. (1976). 262. Prasad A. S., Oberleas D. and col., J. Lab. Clin. Med., 73, 486 (1969).

R

263. Ralin R., in „Molybdenum in the Environment", Editors: Chappel W. R., Petersen K., Marcel Dekker, New-York, vol. 2, p. 797 (1976). 263a. Piscator M., Cadmium Symp., Jena Res., 48 (1977). 264. Ralle J. E., Robbins J., in „The Hormones" (G. Pincus, K. V. Thimann eds.) vol. 5, Acad. Press, New York (1964). 265. Reishus J. W., Martin D. S. Jr., J. Amer. Chem. Soc., 83, 2 457 (1961). 265a. Robins A. B Chem. Biol. Interactions G., 35 (1973). 266. Report N. B. S., Chemistry in Britain, p. 49 (1973). 267. Renger F., Zbl. Pharm., 117, 7, 719 (1978). 268. Roberts J. J., Pascal J. M., Nature (London), 235, 282 (1972). 269. Robins A. B., Chem. Biol. Interactions, 7, 14 (1973); 6, 35 (1973). 270. Roos I. A. G., Thomson A. J., Eogles J., Chem. Biol. Interactions, 8, 421 (1974). 270a. Roche J., Michel R., Truchot R., Wolf W., C. R. Soc. Biol. 149, 884 (1955). 271. Rosenberg G., Platinum Metals Rev., 15 (1971). 272. Rosenberg G., Van Camp L., Cancer Res., 30, 1 799 (1970). 273. Rosenstock H. Z., Simons D. G., Meyer J. S., Jama. 217, 1 354 (1970).

S

274. Sacco A., Rossi M., Chem. Comm., 316 (1967). 275. Salantiu V., Carențele în seleniu la viței, miei, purcei și maloci. Teză doctorat, Inst. Agr. Cluj (1970). 276. Sarker B., Wigfild Y., Can. J. Biochem, 46, 601 (1960); 277. Sartorelli A. C., Both B. A., Proc. Am. Ass. Canc. Res., 7, 62 (1966). 278. Sauvage J. P., Thèse, Strasbourg, (1971). 279. Schalm O. W., Jain N. C., Carrobb J., Vet. Hematology, Lee-Febiger, Philadelphia, ed. 3-a (1975). 280. Schellenberger A., Angew. Chem., 6, 1 024 (1967). 281. Schellenberger A., Winter K. and col., Hoppe-Seylers Z. Physik. Chem., 346, 123 (1966). 282. Schlettwein-Gsell, Mommsen-Straub S., Spurenelemente in Lebensmitteln, Ed. Hans Huber, Berna (1973). 283. Schroeder H. A., The trace elements and man, Old Greenwich, Devin-Adair Co (1975). 284. Schroeder H. A., Nason A. P., Tipton I. H., J. Cron. Dis., 23, 123 (1970). ; 20, 869 , (1967) ; 20, 179 (1967); 15, 541 (1962); 285. Schroeder H. A., Circulation, 35, 570 (1967). 286. Schroeder H. A., Amer. J. Clin. Nutr , 21, 230 (1968) ; J. Nutr. 97, 237 (1969), 287, Schroeder H. A., Balassa J. J., Winton W. I , J Nutr , 80 39 și 48 (1963) ; 83, 23 (1964) ; 86, 51 (1965); J Chronic. Dis. 16, 1 047 (1963); 15, 941 (1962); 17, 483 (1964); 15, 51 (1961) 288 Schnegga, Kirchgessnem M., Inst., J. Vit. Nutr. Res., 46, 96 (1976), 289, Schlettwein-Grell D., Mommsen-Straub S., Inst. Z. Vitamin-Forsch., 40, 673 (1970). 290. Schwartz K., Milne D. B., Nature (London), 239, 333 (1972) ; Science, 174, 426 (1971). 291. Schartz K., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 70, 1 608 (1973). 292. Schwartz K., Chen S. C., Med. Am. Soc. Exp. Biol., 33, 704 (1974). 293. Schwartz K., Milne D. B., Vinyard E., Biochem. Biophys., Res. Comm., 40, 22 (1970). 294. Schwartz K., Vitam. Honno, New York, 20, 463 (1962). 295. Schwartz K., Elements newly identified essential for animais, Vienne, Rapp. techn. 3, (1972). 297. Schubert J., Gorski J., Zbl. Pharm., 117, 7, 784 (1978). 298. Scott M. L., Symp. Fotosolubile Vitam., Univ. Wisconsin Press (1970). 299. Seeling M. S., Human Requirements for magnesium, 1-er Symp. Int. sur le defecit magnesique en pathologie humain, vol. I (1971). 300. Settlemire G. T., Matrone G., J. Nutr., 92, 153—159 (1967). 301. Scrutton M. C., Metalenzymes in „Inorganic Biochemistry, Eichorn G. I., editor, vol. 1, Elsevier, Amsterdam, London, N. Y. (1973). 302. Seven M. J., Metal-Binding in Medicine, J. D. Lippincott, Philadelhia (1960). 303. Schneider P. W., Britzinger H., Erlenmeyer H., Helv. Chim. Acta, 47, 992 (1964). 304. Schrantzer G. N., Schlesinger G., Demeny P. A., J. Amer. Chem. Soc., 93, 1 803 (1971). 305. Shils M. E., Modern nutrition in the health and disease, ed. 5, Philadelphia, Lea-Febiger (1973). 306. Shibata H., Ikeda M., Japan J. Vet. Sci., 32, 137—138 (1970). 307. Shamberger R. J., Forst D. V., Can. Med. Ass., J., 100, 682 (1969). 308. Shack J., Jenkins R. J., Thompsett J. M., J. Biol. Chem., 203, 373 (1953). 309. Sharpless G. R., Metzger M., J. Nutr., 21, 341 (1971). 310. Shutman T. M., Artyukh V. P. and col., Vop. Pitan., 31, 3, 12 (1972). 311. Sillen L. G., Mortell A. E., Stability Constants, ed. 2, Supl. 1, Chem. Soc. Spec. 25 (1971). 312. Sîrbu P. et col., Rev. franc. Gynecol. et Obstet., Paris, 67, 565 (1972). 312 a. Solaiman D., Saryan L. A., Petering D. H., J. Inorg. Biochem. 10, 135—146 (1979). 313. Sörrenson J. R., J. Med. Chem., 19, 1, 135 (1976). 314 a. Sowden M., Stitch S. R., Biochem. J., 67, 104 (1957). 314. Spencer H., Samachson J., Proc. Inst. Int. Symp., Trace Elements, Metab. Anim. 323, 469, Edinburgh (1970). 315. Steiner R. M., Beers R. F. Jr., Polynucleotides, Elsevier, Amsterdam, p. 187 (1961). 316. Straus H. și col. Igiena generală, Ed. did. ped. București (1980). 317. Sasser L. B., Chertok R. J., Jarbag G. E., Callahan M. F., Cadmium Symp., Jena, Res., 56 (1977). 317 a. O'Sullivan W. J., Cohn M., JBC, 241, 3 104, 3 116 (1966). 318. Skoryna S. C., Waldron Edward (eds.), Intestinal Absorption of Metal Ions, Trace Elements and Radionuclides Pergamon, Oxford (1971).

T

319. Tappel A. F., Caldwell in „Selenium in Biomedicine", Ed. O.H. Muth, Avi Publ. Co, Wesport, Connectient (1967). 319 a. Tanaka Y., Harpur E. R., ACS, Abstr. Papers, 174, Meeting Biol., 130 (1977). 320. Taylor M. R., Buttler L. C. and col., Proc. 3rd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Man and Animals, M. Kirchgessner, Tech. Univ., München, 366—369 (1978). 321. Taylor M. R., Gabe E. J., Glucker J. P., Minkin J. A., Petterson A. L., J. Amer. Chem. Soc., 88, 1845 (1966). 322. Thomas J. W., J. Dairy Sci., 53, 1 107—1 123 (1970). 323. Thomas J. W., Williams R. J. P., Raslova S., Structure and Bonding, 11, 1 (1972). 324. Tipton I. H., in „Metal Binding in Medicine" Philadelphia (1960). 324 a. Tipton I. H. and col., Helt. Phys., 12, 1683 (1967); 9, 103, (1963). 325. Trinder R., Hall J., Renton C. P., Vet. Res., 93, 641—644 (1973). 326. Tipton I. H., Cook M. J., Health Phys., 9, 103 (1963). 327. Truter M. R., Mieburn G. W., J. Chem. Soc. (A), 2 609 (1966).

U

328. Underwood E. J., Trace Elements in Human and Animals Nutrition, ed. IV, Acad. Press, New York London (1977).

V

329. Valée B. L., Newer Trace Elements in Nutrition, W. Mertz and Cornatzer W. E., editions, Ed. Dekker, New York (1971); și Advan. Protein. Chem., 10, 317 (1955); J. Amer. Chem. Soc., 78, 5 879 (1956); Physiol. Rev., 39, 443 (1953); 330. Vasca L., Science, 140, 809 (1963). 331. Venchikov A. I., Proc. 2nd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals, Univ. Park Press, Baltimore, London, 295—310 (1974). 332. Vevera V., Fiziopatologia și chimia fierului, Ed. Med. București (1978). 333. Van Tamelen E. E., Advan. Chem. Ser. 100, 95 (1971). 334. Vol'Pin M. E., Shur V. B., Dokl. Akad., Nauk, SSSR, 156, 1 102 (1964). 335. Vol'Pin M. E., Shur V. B., Nature, 209, 1206 (1966).

W

336. Wacker W. E. C., Ann. N. Y., Acad. Sci., 162, 717 (1969); JBC, 234, 3257 (1959). 337. Wanda G., Mitchell J. M. M., J. Inorg. anal. Chem., 40, 199—201 (1978). 338. Ward N. I., Brooks R. R., Roberts E., Bull. Environm. Contam. Toxic, 16, 595—601 (1977). 339. Werner J., Gruhn K., Henning A., Jahrb. Triernähr. Fütterung, 7, 319—331 (1970). 340. Webster L., J. B. C. 240, 4 164 (1965); 242, 1232 (1967). 341. Weser U., Bischoff E., Eur. J. Biochem. 15, 235(1970). 342. Wiesner E., Ernähsungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere, VEB, G. Fischer, Jena, ed 2-a (1970). 343. Williams D. R., An introduction to Bioinorganic Chemistry, Ch. Thomas Publ., Springfield, Ilinois (1976). 344. Williams R. J. P., La recherche, 4, 35, 529 (1973). 345. Williams R. J. P., Miroslav H., Advances in Antimicrobiol. and Antineoplastic Chemotherapie, VII-Int. Congr. Chemotherapy, Prague (1971), vol. 2, Univ. Park Press, Baltimore (1972). 346 Williams R. J. P., The Biochemistry of Cooper, Acad. Press, New-York (1966). 347. Widdowson E. M., Chan H., Harrison G. E., Milner R. D., Biol. Neonte, 20, 360—367 (1972). 348. Wilson J. G., Vet. Res., 97, 161—164 (1975). 349. Wirth W., Hecht G., Gloxhuber C., Toxicologie-Fibel, G. Thiene, Verlags, Stuttgart (1971). 350. Wood J. M., Biological Cycles for Elements in the Environment, Naturwis., 62, 357—364 (1975). 351. Wood J. M., Naturwisch., 62, 357 (1975). La Recherche 70, 711 (1971); La Science, 183 (1975).

Z

352. Zook E. G., Lehman J., J. Amer. Diet. Assoc., 52, 225 (1968). 352 a. Was H., Olofield J. E., Proc. west Sect. Anol. soc. Anim. Sci., 20, 85 (1969).

Y

353. Yamane T., Davidson N., J. Amer. Chem. Soc., 83, 2 599 (1961) 354. * * * Airborn lead in perspective, Washington, D. C. National Acad. Science (1971). 355. * * * Comité mixte FAO/OMS d'éxpertes des Additifs alimentaires. Rapp. techn, nr. 462/1971; Rap. FAO 43; rap. techn. OMS 373/1967; rapp. FAO 51 și rapp. techn. OMS. 505/1972. 356. * * * Fluor et Santé, OMS, Serie de Monographies nr. 59, Geneve (1972). 357. * * * Fluor et Santé, Chronique OMS, vol. 26, 5, 257 (1972). 358. * * * Gronpe mixt FAO/OMS d'éxpertes des besoins en acid ascorbique, vitamine D, B_{12}, acid folique et fer; Rapp. nr. 47/FAO et rapp. tech. 452 OMS/1970. 359. * * * Institut National de Santé Publique; Les composes methyl mercuriels dans le poisson, Stokholm, Nord hyg. T., Suppl. 4 (1971). 360. * * * OMS. Evaluation de certains additivs alimentaires des contaminants: Hg, Pb, Cd (rapp. techn. nr. 505/1972. 361. * * * Manganese. Medical and Biological Effects of Atmospheric Poluants Committée on Biological Effects of Atmospheric Polluants, Mat. Acad. Sci., Washington O. C. (1973). 362. * * * Magnesium deficiency, Leading articole, Lancet, I, 525 (1976). 363. * * * Les oligo-éléments en nutrition humaine, Rapp. tech., nr. 532, OMS, Geneve (1973). 364. * * * Valeurs des oligo-éléments dans l'eau pour la santé, Chronique OMS, 32, 413—417 (1978). 365. * * * Proc. 1-rd. Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals, C. F. Mills E., Livingstone E., Edinburgh, London (1970). 366. * * * Proc. 3-rd Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Man and Animals, M. Kirchgessnerm Techn. Univ. München (1978). 367. * * * Proc. 1-rd Int. Symp. on Trace Element Metabolism in Animals, Univ. Park. Press, Baltimore, London (1974). 368. * * * Prévention de la carie dentaire, Chronique OMS, vol. 26, 7, 369 (1972). 369. * * * La polluation par le plomb et ses dérivés. Monographies scientifiques sur les polluants chimiques. La documentation Française, Paris (1974). 370. * * * Les problèmes sanitaires posès par le plomb présent dans l'environnements, Commission of the European Communitèes éditeur, CIO, Luxembourg (1973). 371. Procedings of the Third Int. Symp. on Platinum Coordination Complexes in cancer Chemotherapy, Dallas, Texas, SUA (1976). 372. * * * Proceedings of Second Int. Symp. Platinum Coordination Complexe in Cancer Chemotherapy, Oxford (1973). 373. * * * Trace elements in relations to cardiovascular diseases, OMS/AIEA, Technical raport, Viene (1973). 374. * * * Risques pour la santé du fait de l'environments, OMS, Geneve (1972). 375. * * * Survey of Cadmium in Food, H. M. Stationery office, London (1973). 376. Chronique OMS, 26, 2 (1972). 377. Relation entre oligo-elements et maladies cardiovasculaires, OMS, Geneve, (1974). 378. Toxic substances, U.S.D.H.E.W., Rockviele Med. (1974). 379. Nouvelle Press Med., vol. 4, 44, 3 112, (1975). 380. Symp. Cooper Metabolism, Mc. Flory W.D. eds., J. Hopkins Press, Baltimore, (1950). 381. La polluation de l'eau par l'amiante, Bull. Ordre Pharm., Paris, 209, (1979).

BCU IAȘI / CEL

BIOLOGIC AND MEDICAL IMPLICATIONS OF ANORGANIC CHEMISTRY

„Junimea" Publishing House", 1981, (Summary)

The recent advances of the anorganic and element-organic chemistry concerning the link, structure and reactivity of the co-ordinative combinations, besides the ever increasing role given to the anorganic bio-ions in explaining an ever growing number of biological processes, the deficiency and their excess endangering life considerably enlarged the domain of application of the anorganic chemistry to the bio-medical sciences and led to the appearance of the bio-anorganic chemistry in a full process of development.

The present paper aims at elucidating, on the basis of a large number of recent data 300, the implications of the co-ordinative chemistry in explaining the role of metallic ions and medicine linkage in the biological processes. It consists of ten chapters as follows: (Introduction); the co-ordinative chemistry of the ions of metals and of living organisms. Essential elements and micro-elements in biological systems; major metallic polluants. Metallic ferments; oxygen transportation; nitrogen fixation in biological systems; micro-elements and cardio-vascular diseases; metals, complex combinations and cancer; linkages, complex combinations and chelates in biology and medicine.

Chapter I deals with more important aspects concerning the tendency of the transitive metals of *d* type to form together with biological linkages amino-acids, peptides, nucleotides, nucleic acids, proteins and porphirins, co-ordinative combinations. It is emphasized their stability, the effect of the metallic ions on the stabilization and enzimatic degradation of the nucleic acids and the phenomenon of chemically transcription and translation.

Chapter II deals with the modality of natural selection in the course of time of the 26 essential elements out of the total of the chemical known elements. Within their evolution and adaptation in time to the needs of the living organisms the elements followed the scheme: poison-impurities; tolerable — useful elements — essential elements. In the

increasing order of their number of order, the essential elements of the living organisms are : hydrogen, boron, carbon, nitrogen, oxygen, fluorine, sodium, magnesium, silicon, phosphorus, sulphur, chlorine, potassium, calcium, vanadium, cromium, manganese, iron, cobalt, nickel, copper, zinc, selenium, molybdenum, tin and iodine.

The basis of the molecular edifice of the living matter : glucids, lipids, nucleic acids consists of : carbon, nitrogen, hydrogen, oxygen, phosporus and sulphur.

The electro-chemical properties of the living matter, the electric neutrality of fluids and cells, the maintainance of the corresponding volume of blood liquids and other fluids of the organism depend on the existence of seven ions among which four cations (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}), and three anions (Cl^-, SO_4^{2-} and PO_4^{3-}).

A third group of essential elements of the living organisms comprises ions of transitive metals (Fe, Cu, Co, Zn, Mn, Mo, Cr, V, Ni) in very small quantities of ppm or ppb orders and hence their name of micro-elements, oligo-elements or trace-elements.

The majority of them are normal components of certain ferments (metallo-ferments) or they activate as ferments, ferments activated by metallic ions and they take part to a large variety of metabolic processes.

Chapter III, the largest one of this volume, synthetises the data from the literature and the conception of the authors concerning the role of the essential elements and micro-elements in biological systems.

Thus, after the authors insist upon the action way of the essential elements and micro-organisms in the organism they deal with the blowing ion agents and their role for the transportation of the ions of alcalin metals through membranes.

They are then concerned with the alcalin-terrous metals — calcium and magnesium, followed by the traditional metals : iron, copper, cobalt, zinc, manganese, molybdenum, cromium, vanadium, tin, and finally selenium, fluorine, iodine, silicon and other elements (aluminium, arsenic, boron, strontium, bromine and germanium).

The individual treatment of the micro-elements is generally made according to the following general scheme which includes a brief presentation of the element, tissular distribution, metabolism, deficiency and pharmacologic action, sources and necessities, toxicity, followed by references. It is also mentioned and brought into relief the synergic or antagonic *in vivo* interactions between micro-elements.

Chapter IV is reserved for major metallic polluants such as mercury, lead and cadmium and it reveals the sources of contamination, their metabolic traffic and the implications of the contamination of the environment.

Thus, the high toxicity of the compounds of mercury, especially under the form of mercury-organic compounds (derivatives ethyl, methyl) the covalent character of the link alkyl-Hg and the large affinity of the mercury for the SH — groups of the proteins, which they precipitate, explain the lesions of the brain cells, the disturbances of the function of mytocondria, lyzozomies, liver, kidneys etc.

With an ever stressing presence in the atmosphere of large towns due to the increased number of auto-vehicles the lead has haematologic, cyto — and hysto-toxic effects extremely noxous upon living organisms.

The cadmium influences the intracellular distribution of zinc affecting the number of haematies, the level of haemoglobin and the activity of cyto-cromoxydase as a consequence of its interactions with Fe, Cu and Zn. A distinct importance is given to the nephro-toxicity Cd and the effects on the fertility and on the cardio-vascular apparatus.

Chapter V synthetises the most important aspects concerning the metallo-ferments, their differenciation from the ferments activated by the metallic ions, the role of the metallic ions in the metal-protein systems, the schemes of co-ordination of the ferments, metals and the sub-layers.

Chapter VI approach the transportation of oxygen to the living organisms, its reversible way of linking by the natural carriers (haemoglobin, myoglobin) and the use of certain simpler chemical models which imitate aspects and behaviours the biological systems based on the property of some ions of the metals belonging to the group VIII (Co(II), Ir (II, III), Fr(II) to reversibly fixate the oxygen in complex combinations.

Chapter VII was reserved for the different modalities of molecular nitrogen fixation by chemical, non-enzymatic means as well as by biological means, indicating mechanisms and models of fixation.

Chapter VIII analyze the implications of the drinking hard and soft water, of some micro-elements (Cr, Zn, Mn, V, Se, Cu, Cd, Co, Ni, Li, F and I) and their quantitative rate in the cardiovascular diseases.

Chapter IX deals with actual aspects concerning the role played by some elements (Be, Pb, Cr, Ni, As, Se, I) for cancer, cancerous linkages and anti-cancerous as well as the anti-tumoral action of some metallic chelates of Cu (II), Zn(II), Co(II), Fe(II) with thiosemicarbonase and the complex combinations of Pt(II) of/PtA_2X_2/type with biologic linkages.

It is revealed the influence of the nature of linkages, of their substitutes and the number of oxydation of platinum upon way of linking of Pt(II) in the molecules of the purinic and pyrimidinic bases of the nucleosides.

The last chapter, X, entitled „Linkages, complex combinations and chelates in biology and medicine" deals with:

— the use of some linkages and chelate-forming agents (2,3-bimercaptopropanol, aminopolycarboxyllic acids, EDTA, DTPA, DCTA, ACATA etc.), deferioxaminate B or E, D-penicillin-amin, aurictricarbonic acid, dithizone and the polymers of chelate agents, in metal or metallic ions poisoning: Ag, Au, Be, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Hg, Mo, Ni, Pb, Sn, Tl, Zn, Se, As, lanthanides or actinides.

— intravenous intake of certain metallic chelates such as Co-EDTA in poisoning with cyanohydric acid or cyanides;

— the introduction into the organism of deficient bio-ions under the form of chelate complex combinations of some organic oxo-acids polyfunctional of the lactic, citric, gluconic, glutamic, fumaric, aspartic etc. acids;

— the use of certain linkages, complex and chelate combinations in the aim of frustrating bacteria, viruses and some microbian systems of essential micro-elements for their activity and to supply toxic materials to pathogenous agents.

Biblioteca de Chimie

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Redactor : ELENA CHIRIAC
Referent ştiinţific : Prof. dr. doc. S. CĂPĂLNA
Tehnoredactor : MIHAI BUJDEI

Apărut 1982. Format 61×86/16. Coli tipo 19.
Bun de tipar la 10.I.1982
Editura Junimea, str. Gheorghi Dimitrov, nr. 1
IAŞI — ROMÂNIA

Tipărit sub cd. 232 la
Întreprinderea poligrafică Iaşi
Str. 7 Noiembrie nr. 49.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

JUNIMEA

IAȘI-ROMÂNIA

LEI 22

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY